

PRYSCILLA GAERTNER

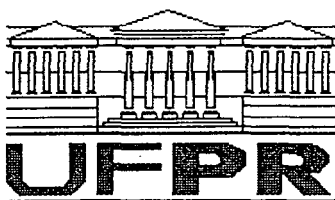
**INTERAÇÃO ENTRE *Rhizobium tropici* E ÉPOCAS DE ADUBAÇÃO  
NITROGENADA NA CULTURA DO FEIJÃO**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. Edelclaiton Daros

CURITIBA

2003



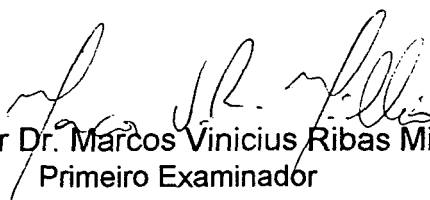
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E FITOSSANITARISMO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
PRODUÇÃO VEGETAL

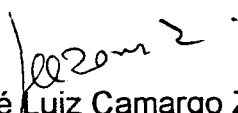
PARECER

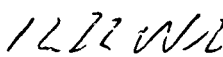
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal, reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO, apresentada pela candidata PRYSCILLA GAERTNER, sob o título **“INTERAÇÃO ENTRE *Rhizobium tropici* E ÉPOCAS DE ADUBAÇÃO NITROGENADA NA CULTURA DO FEIJÃO”** para obtenção do grau de Mestre em Ciências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Produção Vegetal do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

Após haver analisado o referido trabalho e arguido a candidata são de parecer pela **"APROVAÇÃO"** da Dissertação.

Curitiba, 29 de Dezembro de 2003.

  
Professor Dr. Marcos Vinicius Ribas Milléo  
Primeiro Examinador

  
Prof. Dr. José Luiz Camargo Zambon  
Segundo Examinador

  
Dr. Heroldo Weber  
Terceiro Examinador

  
Professor Dr. Edelclaiton Daros  
Presidente da Banca e Orientador

Ao meu filho João Pedro

Aos meus pais Norberto e Florete

Aos meus irmãos Luiz Guilherme e Luiz Frederico

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela vida e oportunidade de realização do curso e deste trabalho, peço a Ele que possa abençoar todos que de alguma forma, mesmo que singela, contribuíram com apoio moral, elaboração e execução deste trabalho. Sem que possa ser injusta e esquecer alguém, referenciar-me-ei a todos:

Muito obrigado

## BIOGRAFIA DO AUTOR

PRYSCILLA GAERTNER, Filha de Norberto Gaertner e Florete da Aparecida Gaertner, nasceu em Curitiba, Estado do Paraná, aos 16 de novembro de 1972. Solteira mãe de João Pedro Gaertner, nascido em fevereiro de 2002, no transcorrer do curso de mestrado.

Cursou o ensino fundamental em Curitiba, PR tendo em 1989 terminado o 2º grau sempre mostrou interesse pela área de ciências exatas e biológicas, optou pelo curso de Agronomia pela amplitude de atuação em áreas humanas, biológicas e técnicas. Durante a vivência acadêmica realizou monitorias nas disciplinas de Morfologia Vegetal I e II, e Sistemática Vegetal. Participou como estagiária na pesquisa com estudos etnobotânicos de plantas medicinais nativas, e introdução a pesquisa em solos, com o trabalho na produção de grãos de soja em diferentes sistemas de cultivo principalmente o plantio direto, participou de Eventos de Iniciação Científica 1998 e 1999. Em 1999 recebeu o grau de Engenheira Agrônoma, conferido pela Universidade Federal do Paraná.

A primeira experiência profissional entre 2000 a 2001 foi prestando serviços para o Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária (INCRA), onde se motivou em trabalhar na busca de atividades que pudessem acrescentar, mesmo que indiretamente, respostas de tecnologias que visassem atender a agricultura sustentável, economicamente, ambientalmente e tecnicamente. Conquistou em março de 2001 a inclusão no Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, no Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo da Universidade Federal do Paraná, para trabalhar no auxílio de pesquisas que pudessem acrescentar conhecimento sobre o manejo de culturas, ampliando seu horizonte.

## SUMÁRIO

|  |      |
|--|------|
| LISTAS DE TABELAS.....   | vii  |
| LISTA DE FIGURAS.....  | viii |
| LISTAS DE ANEXOS .....   | ix   |
| RESUMO .....   | x    |
| ABSTRACT .....   | xi   |
| 1 INTRODUÇÃO.....  | 1    |
| 2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA .....  | 3    |
| 2.1 AS FABACEAS E A FBN.....   | 3    |
| 2.2 O FEIJÃO .....   | 3    |
| 2.2.1 A planta .....   | 3    |
| 2.2.2 A cultura e seu manejo.....  | 4    |
| 2.3 O RIZÓBIO .....  | 6    |
| 2.3.1 A bactéria .....   | 6    |
| 2.3.2 Processo que ocorre infecção/nodulação e a absorção de N <sub>2</sub> pela FBN ..... | 6    |
| 2.3.3 A inoculação .....   | 8    |
| 2.3.4 O rizóbio e o feijoeiro.....   | 9    |
| 2.4 O NITROGÊNIO .....   | 10   |
| 2.4.1 Relações do nitrogênio com o solo e o meio .....                                     | 10   |
| 2.4.2 O nitrogênio e a planta .....  | 12   |
| 2.4.2.1 Processo que ocorre fixação de nitrogênio pelas plantas .....                      | 13   |
| 2.4.3 Processo de produção dos adubos nitrogenados .....                                   | 13   |
| 2.4.4 Adubação nitrogenada no feijoeiro.....   | 14   |
| 3 METODOLOGIA.....   | 16   |
| 3.1 OBTENÇÃO E PREPARO DO SOLO.....  | 16   |
| 3.2 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO.....   | 17   |
| 3.2.1 Preparo dos vasos.....   | 17   |
| 3.2.2 Inoculação .....   | 17   |
| 3.2.3 Semeadura .....  | 17   |
| 3.2.4 Adubação nitrogenada .....   | 18   |
| 3.2.5 Condições climáticas .....   | 18   |

|   |           |
|---|-----------|
| 3.3 PARÂMETROA AVALIADOS.....                       | 19        |
| 3.3.1 Avaliações no florescimento (R6) .....        | 19        |
| 3.3.2 Avaliações na maturação fisiológica (R9)..... | 19        |
| 3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....                 | 20        |
| <b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>               | <b>21</b> |
| 4.1 AVALIAÇÕES NA FLORAÇÃO (R6).....                | 21        |
| 4.1.1 Massa seca de planta.....                     | 22        |
| 4.1.2 Nitrogênio total da parte aérea .....         | 23        |
| 4.1.3 Número de nódulos .....                       | 25        |
| 4.2 AVALIAÇÕES NA MATURAÇÃO FISIOLÓGICA (R9) .....  | 26        |
| 4.2.1 Número de vagens .....                        | 28        |
| 4.2.2 Número de grãos .....                         | 29        |
| 4.2.3 Massa exata de grãos .....                    | 30        |
| 4.2.4 Massa de 100 grãos estimada.....              | 30        |
| 4.2.5 Produtividade estimada .....                  | 31        |
| <b>5 CONCLUSÕES.....</b>                            | <b>34</b> |
| <b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>                 | <b>35</b> |
| <b>7 REFERÊNCIAS .....</b>                          | <b>36</b> |

## LISTAS DE TABELAS

|   |    |
|---|----|
| TABELA 1 - Características químicas e físicas do solo (antes e depois da adubação com fósforo (P) e potássio (K)).....  | 16 |
| TABELA 2 - Resultados da avaliação das temperaturas médias (T°C) do ar e do solo e umidade relativa (U.R.%) durante os estádios de desenvolvimento da cultura do feijoeiro . ....   | 18 |
| TABELA 3 - Descrição dos tratamentos .....  | 20 |
| TABELA 4 - Valores médios obtidos da massa seca da parte aérea da planta no feijoeiro "FT Bio Nobre", com seis épocas de aplicação de nitrogênio .....  | 21 |
| TABELA 5 - Valores médios obtidos do nitrogênio total da parte aérea e número de nódulos por planta, no feijoeiro "FT Bio Nobre", com ou sem <i>Rhizobium tropici</i> via inoculação de sementes, e épocas de aplicação de nitrogênio na forma de uréia .....   | 22 |
| TABELA 6 - Valores médios obtidos do número de vagens por vaso, número de grãos por vaso, massa exata de grãos por vaso, massa de 100 grãos estimada e produtividade estimada no feijoeiro "FT Bio Nobre", com ou sem <i>Rhizobium tropici</i> via inoculação de sementes, e épocas de aplicação de nitrogênio na forma de uréia..... | 27 |



## LISTAS DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| FIGURA 1 - Valores médios de nitrogênio total da parte aérea resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio..... | 24 |
| FIGURA 2 - Valores médios do número de nódulos por vaso resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.....      | 26 |
| FIGURA 3 - Valores médios do número de vagens por vaso resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.....       | 28 |
| FIGURA 4 - Valores médias do número de grãos por vaso resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.....        | 29 |
| FIGURA 5 - Valores médios da massa exata de grãos por vaso resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.....   | 30 |
| FIGURA 6 - Valores médios da massa de 100 grãos estimada resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.....     | 31 |
| FIGURA 7 - Valores médios da produtividade estimada resultante da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.....           | 32 |

## LISTA DE ANEXOS

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| ANEXO 1 - | Análise de variância dos resultados das avaliações realizadas no estádio R6 (floração) no feijoeiro “FT Bio Nobre” com e sem rizóbio e seis épocas de aplicação de nitrogênio .....              | 41 |
| ANEXO 2 - | Análise de variância dos resultados das avaliações realizadas no estádio R9 (maturação fisiológica) no feijoeiro “FT Bio Nobre” com e sem rizóbio e seis épocas de aplicação de nitrogênio ..... | 42 |

## RESUMO

Com o objetivo de avaliar a produtividade do feijoeiro, em relação à eficiência da infecção com *Rizhobium tropici* e as épocas de aplicação de nitrogênio, na variedade de feijão preto "FT Bio Nobre", realizou-se um experimento em casa de vegetação, no Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, no período de outubro de 2001 a janeiro de 2002. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado em arranjo fatorial 2X6, composto pelos fatores com e sem inoculante e seis épocas de aplicação de nitrogênio, com quatro repetições, totalizando 48 unidades experimentais. O solo que serviu de substrato foi coletado de uma área de cultivo de culturas anuais do Centro de Estações Experimentais da UFPR, em Pinhais, PR, sendo classificado como um LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO. Foram feitas análises química e física deste solo. O substrato foi peneirado e, em seguida, adubado com  $K_2O$  e  $P_2O_5$ , conforme recomendações para a cultura do feijoeiro. Foram semeadas seis sementes por vaso com capacidade de 4,9 kg de solo, e posteriormente deixadas apenas duas plantas úteis por vaso. A adubação nitrogenada foi na forma de uréia, parcelada em um terço na semeadura e dois terços em cobertura. A umidade do solo foi mantida em 75% da capacidade de campo. Foram feitos monitoramentos diários das temperaturas do ar e do solo. Determinaram-se duas épocas para as avaliações, que foram feitas em dois estádios do desenvolvimento da cultura, na floração (R6) foram avaliados massa seca de planta, nitrogênio total da parte aérea e número de nódulos por vaso, na maturação fisiológica (R9) foram avaliados os componentes do rendimento e produtividade estimada. Os resultados da interação entre rizóbio e épocas de adubação nitrogenada no estádio de floração (R6) mostraram que para a massa seca de planta produzida somente as épocas de aplicação de nitrogênio mostraram diferenças significativas, já para o nitrogênio total da parte aérea e para o número de nódulos houveram diferenças significativas entre a interação com *Rizhobium tropici* e épocas de adubação nitrogenada. Os resultados na maturação fisiológica (R9) mostraram que para os componentes do rendimento: número de vagens, número de grãos, massa exata de grãos, massa de 100 grãos e produtividade estimada todas apresentaram diferenças significativas. A variedade testada de feijão FT Bio Nobre mostrou-se eficiente na formação de nódulos com a utilização do *Rhizobium tropici*. A FBN pelo *Rhizobium tropici* foi eficiente. A melhor produtividade do feijoeiro FT Bio Nobre foi com inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada na semeadura e cobertura V3. No florescimento (R6): A massa seca da parte aérea foi influenciada pelas épocas de aplicação de nitrogênio. O nitrogênio total da parte aérea esteve dentro dos níveis adequados. O *Rhizobium tropici* foi eficiente na formação do número de nódulos. Na maturação fisiológica (R9): O fator limitante para o desenvolvimento dos componentes do rendimento, (número de vagens, número de grãos, massa exata de grãos, massa de 100 grãos estimada), foi o nitrogênio. A produtividade estimada teve os melhores resultados com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada na semeadura e cobertura V3.

Palavras – chave: feijoeiro, uréia, rizóbio, fixação biológica de nitrogênio, *Phaseolus vulgaris*

## ABSTRACT

With the objective to evaluate the productivity of the feijoeiro, in relation efficiency of infection with *Rizhobium tropici* and épocas of application of nitrogen, in the variety of bean black FT Bio Nobre, was become fulfilled an experiment in house of vegetation, the Sector of Ciências Agrárias of the Federal University of the Paraná (UFPR), Curitiba, PR, of October of 2001 the January of 2002. The entirely casualizado delineation in factorial arrangement was used 2X6, composition for the factors presents and ausencia of rizóbio and six épocas of application of nitrogen, with four replacations, totalizing 48 units experimental. The ground that served of substratum was collected of área of culture of Experimental annual cultures of the Center of Estates of the UFPR, in Pinhais, PR, being classified as a LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO. They had been made analyses química and física of this ground. The substratum was bolted e, after that, adubado with  $K_2O$  and  $P_2O_5$ . Fertilization nitrogenada was in the form of ureia, parceled out in one terço in the sowing and two terços in covering. The humidity of the ground was kept in 75% of the field capacity. They had been diários monitoramentos facts of the temperatures of air and the ground. One determined two times for the evaluations, that had been made in two stadiums of the development of the culture, in the budding (R6) had been evaluated dry mass of plant, total nitrogen of the aerial part and number of nodules for vase, in the physiological maturation (R9) the components of the income and esteem productivity had been evaluated. The results in the budding stadium (R6) had shown that for the dry mass of plant only produced the times of nitrogen application had shown differences, when if it applied mineral nitrogen in the sowing and covering (V3) and in covering (V3) the best ones resulted had been found only; already for total nitrogen of the aerial part the treatments with rizóbio and nitrogenada fertilization better had resulted, and all the treatments had met inside of adequate níveis; e for the number of nodules for plant tropici had had diferenças significant between the treatment inoculated with *Rizhobium*, that it revealed efficient in the nodulação process, but also showed to be sensible the nitrogen application in the sowing. The results in the physiological maturation (R9) had shown that for the components of the income: number of string beans for vase, number of grains for vase, accurate mass of grains for vase, mass of 100 grains esteem and esteem productivity all had presented significant differences, and the factor absence and presence of rizóbio had comportamento had highly a dependent of the factor times of nitrogen application, the best ones resulted with and without rizóbio had been always with fertilization nitrogenada in the sowing and V3 covering. The tested variety of beans revealed efficient in the formation of nodules, the rizóbio was not efficient in the Setting Biológica de Nitrogênio, needing the culture nitrogen applications saw mineral, to express its productive potential.

Words - key: beans, urea, rizóbio, fixação biological of nitrogen, *Phaseolus vulgaris*

## 1 INTRODUÇÃO

As Fabaceas (leguminosas) representam um grande número de espécies de importância econômica e constituem a base da alimentação no terceiro mundo. Seu cultivo ocupa cerca de 11% de terras cultiváveis (25). No Brasil o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) é uma cultura de grande importância econômica e social, constitui um dos alimentos básicos da população, fornecendo proteínas, carboidratos e sais minerais como Ferro (Fe), Sódio (Na) e Potássio (K) (3, 77, 80). O Brasil mundialmente é responsável por 20 % da produção ocupando a segunda colocação, produzindo apenas para o consumo interno. A cultura é amplamente difundida em todo o país, produzida em todas as regiões. Adapta-se a diversas condições de clima e solo, dentro de diferentes sistemas de cultivos. Estes sistemas de cultivo são geralmente conduzidos por pequenos produtores que utilizam baixa tecnologia e que têm sua renda associada às condições climáticas; sua produção destina-se ao consumo familiar e o excedente a comercialização, o que garante 40% da produção nacional concentrados na safra das águas. O restante da produção nacional está dividida em duas safras: a safra das secas com 50% e a safra de inverno com 10% da produção nacional. Estas duas safras já se caracterizam por médios e grandes produtores com alto nível tecnológico, que utilizam rotação de culturas e sistemas de irrigação (16, 23, 38, 40, 52).

A cultura de feijão é a terceira em área semeada no território nacional, com 4,1 milhões de ha e a quarta em valor de produção com 3 milhões de ton, e rendimento médio de 732 kg.ha<sup>-1</sup> na safra 2002/2003. Dentro do contexto nacional o Paraná situa-se como maior produtor, sendo responsável por 19,3% da produção nacional, com área de 533 mil ha e produção de 707 mil ton, com uma produtividade média de 1.326 kg.ha<sup>-1</sup> (38, 68, 69).

O ciclo de desenvolvimento curto da cultura do feijoeiro torna a exigência nutricional alta, tornando-se fator limitante na cultura. O nitrogênio (N) é um elemento essencial para desenvolvimento do feijão. O nitrogênio pode ser disponibilizado para a cultura de três maneiras, pela mineralização do solo, pela adição de fertilizantes químicos ou através do processo da Fixação Biológica de Nitrogênio (FBN) (56, 63, 77).

A utilização da FBN como fonte de nitrogênio para as plantas requer mais estudos, pois o processo de simbiose que ocorre entre a planta e as bactérias existentes no solo dependem de diversos fatores bióticos e abióticos relacionados ao ambiente (37, 55, 71, 73). A utilização de inoculantes eficientes, aliados a um manejo melhor das condições físicas e químicas do solo, é uma alternativa para aumentar a produtividade do feijoeiro, diminuindo impactos ambientais e custos produtivos (22).

As populações de rizóbios introduzidos no solo por meio da inoculação de sementes no feijoeiro, geralmente apresentam baixa capacidade de competir com outros microrganismos existentes no solo, podendo comprometer a substituição das adubações nitrogenadas pela obtenção do  $N_2$  via fixação biológica. A possibilidade de combinações de variedades de plantas com rizóbios eficientes no processo de FBN, são alternativas, para incrementos de altas produtividades (34, 71). Atualmente estirpes de *Rhizobium tropici* são recomendadas para inoculação das sementes de feijoeiro, por serem estas bactérias mais tolerantes à acidez e resistentes a altas temperaturas do solo. Outra vantagem do *Rhizobium tropici* é sua competitividade com os rizóbios nativos do solo, formando a maioria dos nódulos ativos da planta, sendo mais eficientes na FBN (6, 27, 32, 41, 49, 50, 74).

Se a inoculação das sementes de feijão for feita com estirpes eficientes de *Rhizobium tropici* a planta pode ser nutrida pela FBN, diminuindo o nitrogênio mineral a ser aplicado sem reduzir a produtividade. Assim o objetivo geral do trabalho foi avaliar o rendimento do feijoeiro FT Bio Nobre com a interação do *Rhizobium tropici* (agente de nodulação mais eficiente na formação de nódulos) com seis épocas diferentes de aplicação de nitrogênio ( $60 \text{ kg.ha}^{-1}$ ), e os objetivos específicos foram avaliar o comportamento da interação do *Rhizobium tripici* com seis épocas de aplicação de nitrogênio em dois estádios de desenvolvimento: no florescimento (R6), para a formação de massa seca da planta, acúmulo de nitrogênio total da parte aérea e número de nódulos formados; e na maturação fisiológica (R9): avaliar os componentes do rendimento, estimando a produtividade do feijoeiro.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 AS FABACEAS E A FBN

Várias espécies da família Fabacea, são infectadas naturalmente por bactérias existentes no solo, esses microorganismos podem fornecer as plantas  $N_2$  através do processo conhecido como FBN. Neste processo ocorre uma interação simbiótica mutualista entre a planta e o microorganismo formando nódulos nas suas raízes ou caule. Mas o processo de FBN só ocorre quando a planta tiver um excesso de carbono em relação ao nitrogênio, só inicia-se quando a planta ceder energia para que a bactéria possa entrar em atividade e fornecer o nitrogênio necessário, ou até que se esgote o nitrogênio presente na semente (21, 29, 42, 47).

O melhoramento genético das plantas leguminosas leva em conta a capacidade de associação com as bactérias que fixem altas quantidades de nitrogênio, podendo vir a dispensar ou pelo menos reduzir as quantidades de adubos nitrogenados utilizados nessas culturas, para a planta o principal benefício é tomar-se alto suficiente em nitrogênio, dispensando o uso de fertilizantes nitrogenados (22, 34).

### 2.2 O FEIJÃO

#### 2.2.1 A planta

Botanicamente o feijoeiro pertence à divisão Angiospermae, classe Dicotyledonaea, subclasse Archichlamydae, ordem Rosales, subordem Leguminosineae, família Fabaceae comumente denominada leguminosa, gênero *Phaseolus* e espécie *Phaseolus vulgaris* L. (18). Pode ser descrito morfológicamente como planta herbácea, levemente pubescente, de hábito de crescimento determinado e indeterminado (80), com raiz ramificada, o sistema radicular pouco profundo, é considerado uma planta exigente em nutrientes, (59). Folhas simples e compostas. Inflorescência um racemo, com flores axilares ou terminais, com coloração branco-amarelo-rósea. Fruto é um legume. A planta possui diferentes hábitos de crescimento, que conforme sua estrutura as cultivares são classificadas em tipos: Tipo I - crescimento determinado de porte ereto, com ciclo mais curto, cerca de 60 a 70 dias

(cultivares precoces); Tipo II - crescimento indeterminado de porte ereto e ciclo intermediário, cerca de 80 a 100 dias; Tipo III - crescimento indeterminado de porte prostrado, ciclo intermediário, cerca de 80 a 100 dias; e Tipo IV - crescimento indeterminado e porte volúvel, possui ciclo longo cerca de 100 dias (cultivares tardios) (18, 42, 59, 78, 79).

O ciclo de desenvolvimento do feijoeiro está dividido em duas fases distintas a fase vegetativa dividida em: V0 (germinação), V1 (emergência), V2 (formação das folhas primárias), V3 (aparecimento da primeira folha trifoliolada), V4 (aparecimento da quarta folha trifoliolada) e fase reprodutiva dividida em: R5 (pré-floração), R6 (floração), R7 (formação de vagens), R8 (enchimento de vagens) e R9 (maturação de vagens) (26).

Os fatores externos que interferem no seu desenvolvimento são: (a) a luz, interfere na ocorrência de saturações fotossintéticas reduzindo o metabolismo dos compostos orgânicos que originam a estrutura da planta, mesmo com intensidades luminosas baixas; (b) a temperatura, interferindo principalmente na fase reprodutiva, onde as flores perdem a viabilidade germinativa, sob altas temperaturas os grãos de pólen ficam inviabilizados e sob baixas temperaturas os óvulos perdem a viabilidade, o que ocasiona uma menor formação de vagens e conseqüentemente perda de rendimento de grãos, a faixa ideal para o desenvolvimento da cultura está entre 29 a 21°C (dia/noite); (c) a água é essencial, o desenvolvimento da cultura, quando escassa, reduz a taxa de fotossíntese, diminuindo a disponibilidade de fotossíntatos prejudicando a absorção de nutrientes (42, 46).

### 2.2.2 A cultura e seu manejo

A produção atualmente é realizada em todas as regiões do país, o feijoeiro se adapta a diversas condições de clima e solo, sendo possível explorar a cultura em três épocas diferentes no mesmo ano: (a) a safra das águas, 1ª safra é semeada entre agosto e outubro, com área de 1,4 milhões ha e produção de 1,2 milhões ton com produtividade média de 857 kg.ha<sup>-1</sup>; (b) a safra das secas, 2ª safra é semeada de Janeiro a Março, com área de dois milhões ha e produção de 1,2 milhões ton com produtividade média de 600 kg.ha<sup>-1</sup>; (c) a safra de inverno 3ª safra, é semeada de Abril a Julho, com área de 835 milhões ha e produção de 712 milhões ton com produtividade média de 852,7 kg.ha<sup>-1</sup> (16, 38, 52).

Um dos fatores limitantes à produtividade é a baixa disponibilidade de nutrientes no solo sobre tudo o P e o N (39, 54, 62), porém existe um aumento em produtividade por área, o que evidencia a especialização no cultivo da cultura, principalmente no que diz respeito ao perfil de produtores e ao seu manejo (52).

No Brasil, o feijão é freqüentemente produzido dentro dos mais variados arranjos produtivos em monocultivo, consorciado ou em rotação de culturas, o sistema convencional



e o sistema de semeadura direta são os sistemas mais utilizados pelos agricultores, é *geralmente cultivado em áreas de relevo acidentado, terras ácidas com baixa fertilidade*, que gera baixas produtividades (22, 44, 60), o uso de calagens e fertilizantes minerais tem custo elevado, e muitas vezes não é utilizado (23). O sistema convencional caracterizado pelo uso *de adubação mineral nitrogenada e pelo preparo do solo com arado e grade de diferentes tipos e dimensões*, resultam em degradações do solo nas condições tropicais e subtropicais, poluindo águas subterrâneas pela infiltração de nitritos, além de problemas como: (a) *espelhamento e compactação do solo*; (b) *desgaste de implementos* e (c) *grande desperdício de energia*. O sistema de semeadura direta introduzida desde 1970 no Brasil, tem grande contribuição no controle de erosão e aumento no teor de M.O. do solo, envolve o *não revolvimento do solo, a manutenção de resíduos culturais na superfície do solo e a rotação de culturas*, promovendo, portanto, a melhoria da qualidade do solo e aumento no potencial produtivo, é uma prática que pode ser utilizada com sucesso na cultura do feijão (8,11).

Como a produtividade é dependente do genótipo e do ambiente, o uso de fertilizantes é indispensável para que a cultura possa expressar todo seu potencial *produtivo, principalmente, considerando a baixa fertilidade dos solos cultivados e a importância no fornecimento de nitrogênio para o feijoeiro* (10, 43, 60). Embora a adubação nitrogenada seja prática recomendada para o feijoeiro, ela não é recomendável por ser *economicamente inviável pelos altos custos e baixos rendimentos* (12, 13). O feijoeiro necessita de nutrição balanceada para exteriorizar o seu potencial produtivo.

O feijoeiro é considerado uma planta exigente em nutrientes, em função do *pequeno e pouco profundo sistema radicular e do ciclo curto*. Por isso, é fundamental que o nutriente seja colocado à disposição da planta em tempo e local adequados. A absorção de macronutrientes pelo feijoeiro ocorre principalmente nos 50 dias iniciais, onde se verifica que *a planta absorve todo o N o K e o Ca de que necessita, já o P é absorvido de modo mais ou menos contínuo até o final do ciclo*. Os macro e micro nutrientes constituem em torno de 5% do peso seco das plantas e são provenientes do solo e dos fertilizantes, com exceção do *nitrogênio, que além dessas fontes pode ser fixado do ar pelas leguminosas* (62,63). As quantidades médias de nutrientes exportados por 1.000 kg de grãos citadas em várias pesquisas são: 35,5 kg de N, 4,0 kg de P, 15,3 kg de K, 3,1kg de Ca, 2,6 kg de Mg e 5,4 kg de S (17, 20, 45, 63). As *curvas de produção mostram que a faixa de pH do solo que oferece melhores condições de desenvolvimento para o feijoeiro situa-se entre 5,8 e 6,2*, onde os nutrientes encontram condições próximas da disponibilidade máxima, nessas condições atingimos os níveis altos de produtividade, além das condições de fertilidade do

solo as condições físicas favoráveis de arejamento e umidade equilibradas contribuem para um bom desenvolvimento (43, 44, 60). A calagem aumenta a absorção de N,P,K, Ca, Mg e Cu e a podendo ainda aumentar a produtividade do feijoeiro em até 37% (7, 44, 60).

## 2.3 O RIZÓBIO

### 2.3.1 A bactéria

Na natureza o processo de FBN é realizado por determinados grupos de microorganismos procarióticos, que fixam nitrogênio atmosférico ( $N_2$ ), pois possuem a enzima nitrogenase, são bactérias existentes no solo, da família Rhizobiaceae, pertencente aos gêneros *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium* e *Rhizobium*, denominados genericamente de rizóbios. Os rizóbios são bactérias do tipo bastonete gran negativas, heterotróficas, de vida livre, porém muitas destas bactérias encontradas no solo, não são eficientes no processo de simbiose, pois apresentam baixa especificidade, e grande competição por sítios de infecção, dependendo de espécies e dentro de cada espécie dependendo da estirpe que se diferenciam entre si por diversas características, entre elas a de fixar mais ou menos nitrogênio. O sistema de fixação biológico é tipicamente simbiótico, permite que a bactéria forneça o nitrogênio do qual a planta necessita e recebe desta os carboidratos que servem de fonte de energia, para reduzir o  $N_2$  em íon amônia ( $NH_4$ ) (4, 29, 37, 41, 74).

Muitos estudos tentam compreender a dinâmica de interação desses microorganismos com o solo e a planta. Sabe-se que a interferência da temperatura do solo pode retardar a infecção e a formação de nódulos, tanto nativos como os introduzidos. Outro fator importante é a umidade deste solo, pois bactérias necessitam de água para estarem ativas. A fertilidade do solo também influencia, quanto mais adequados forem de fertilidade, melhor o processo de infecção. Em termos agrícolas a simbiose rizóbio/leguminosas representa uma menor necessidade de aplicação de fertilizantes nitrogenados. Para assegurar que o  $N_2$  seja fixado nos nódulos é indispensável corrigir a acidez do solo, pois o processo de fixação mostra altas exigências de Ca e Mg, além de Co e Mo. A FBN com bactérias nativas contribui, em média com 40% do N total da planta (28, 37, 71).

### 2.3.2 Processo que ocorre infecção/ nodulação e a absorção de $N_2$ pela FBN

As bactérias vivem nos solos a procurar raízes de leguminosas, e através de seus pelos radiculares, penetram no tecido da raiz, provocando uma infecção que se caracteriza

pela estrutura que conhecemos como nódulo, os nódulos radiculares possuem uma organização própria de tecidos, que apresenta um meristema responsável pela formação das células da região de invasão, uma região central e conexões vasculares com o xilema do cilindro central da raiz, envolvendo e delimitando toda essa estrutura está o parênquima do nódulo. A infecção ocorre em plantas jovens, geralmente nas raízes onde as concentrações de auxina, giberilinas e citocininas são altas devido a grande atividade de divisão celular, ocorre um aumento da concentração de bactérias nas proximidades da raiz, essas bactérias colonizam a rizosfera, multiplicando-se ao redor dos tricômas (pêlos) radiculares. Os tricômas enrolam-se, envolvendo os grupos de bactérias, que degradam uma porção das células da parede celular do tricoma, e a plasmalema começa a se invaginar, originando o cordão de infecção. A planta e a bactéria interagem com trocas de sinais químicos, para que ocorra a formação de um cordão de infecção, no seu interior as bactérias continuam se multiplicando no córtex da raiz essa região recebe o nome de nódulo primário. Ao chegar nas proximidades do nódulo primário, o cordão de infecção se ramifica para invadir as células vegetais. O processo de nodulação ocorre efetivamente quando sinais em cadeia controlados por genes da bactéria, originam o sistema de nitrogenase (responsável pela clivagem da molécula de  $N_2$ ) iniciando-se a fixação de nitrogênio, forma-se então o bacterióide, forma-se também a leghemoglobina (responsável pelo transporte de oxigênio no interior do nódulo). A amônia formada no interior dos nódulos sofre algumas reações intermediárias, sendo estas substâncias transportadas para toda a planta pela seiva, entrando nos aminoácidos (9, 29, 36, 42, 53, 61, 72).

A fixação do  $N_2$  pelo nódulo dá origem à amônia ( $NH_3$ ), para que a reação ocorra, é necessário que haja um transporte de elétrons, realizado pela enzima nitrogenase que é formada por duas unidades protéicas, a Ferro-proteína (Fe-proteína) e a Molibdênio-Ferro-proteína (MoFe-proteína), ambas capazes de transportar elétrons, após 8 transferências, essa unidade terá acumulado 8 elétrons e, então, fará a redução do  $N_2$  à  $NH_3$ , e para cada elétron transferido da Fe-proteína para a MoFe-proteína são consumidos 2 ATPs. Para reduzir uma molécula de  $N_2$  são necessários 8 elétrons e, portanto, 16 ATPs. A amônia formada no interior dos nódulos sofre algumas reações intermediárias, em contato com o substrato aquoso do citoplasma dos bacterióides é convertida, rapidamente, em íon ( $NH_4^+$ ) que não pode acumular-se no interior dos bacterióides, é retirado e atinge o citoplasma da célula vegetal hospedeira, onde duas enzimas, a glutamina sintetase (GS) e a glutamato sintase (GOGAT), responsáveis pela conversão do  $NH_4^+$  em aminoácidos: a glutamina e o glutamato, as leguminosas também produzem ureídeos para a exportação do nitrogênio ao longo do organismo vegetal. Após a floração os nódulos envelhecem, degradando a

legamoglobina, liberando assim a bactéria para infectar outras plantas. A quantidade de N assimilado depende da quantidade de C assimilado, tendo-se um baixo rendimento fotossintético da planta hospedeira a FBN também diminui. (9, 42, 53, 61).

### 2.3.3 A inoculação

O processo de aumentar a concentração de microorganismos existentes num espaço determinado denomina-se inoculação, na semente este processo é feito a fim de promover a FBN, em leguminosas. O inoculante é produzido com a cultura pura de estirpes de bactérias selecionadas, misturadas a um veículo, como a turfa, tipo de solo com alto índice de matéria orgânica. A qualidade do inoculante depende do processo de produção, armazenagem e distribuição. Ainda não existe uma política única para a fabricação de inoculante. (14, 73). A produção de inoculantes é regida por legislação específica, o Ministério da Agricultura, Pecuária e do Abastecimento (MAPA) atualmente exige uma concentração mínima de  $10^8$  células de rizóbio viáveis por grama de produto em qualquer momento até o prazo de validade (22, 73).

Algumas das causas das respostas negativas à inoculação, em condições de campo tem sido: (a) a baixa qualidade dos inoculantes, decorrentes da queda na taxa de sobrevivência da bactéria no veículo utilizado; (b) o uso de estirpes de baixa competitividade com estirpes de rizóbio nativas; e (c) a baixa adaptação das estirpes introduzidas às condições ambientais do local de introdução. A prática da inoculação será benéfica para os agricultores, quando houver incremento no rendimento de grãos, no conteúdo de proteína e na quantidade de nitrogênio do solo (11, 34).

A inoculação consiste em misturar o inoculante comercial com as sementes umedecidas, deve ser realizada à sombra nas horas mais frescas, recomenda-se o uso de 1 kg de inoculante para 50 kg de semente no caso de feijão, esta mistura pode ser feita manualmente ou em betoneiras, o importante é que haja uma distribuição uniforme do inoculante sobre as sementes, assegurando uniformidade na nodulação, é recomendável o uso de açúcar cristal na concentração de 10% na água (cinco a sete colheres de sopa em um litro de água) com a qual vai se umedecer as sementes, para aumentar a aderência do produto. O inoculante pode ser misturado a agroquímicos, devendo tomar cuidado com fungicidas a base de metais pesados, deve-se então primeiro tratar as sementes com estes produtos para depois proceder à inoculação, da mesma forma com os micronutrientes (14, 57, 73).

#### 2.3.4 O rizóbio e o feijoeiro

O feijoeiro é uma planta que apresenta grande variabilidade entre seus cultivares, embora a inoculação possa apresentar considerável suprimento de nitrogênio ao feijão por meio de simbiose, que melhora a FBN, uma série de fatores relacionados com a planta, com o rizóbio, com o solo e com a interação dos três pode afetar decisivamente a nodulação, o feijoeiro considerado anteriormente como uma leguminosa de nodulação específica, tornou-se hoje uma das leguminosas de nodulação mais promíscua sendo confirmado que rizóbios isolados de diversas outras leguminosas são capazes de induzir a formação de nódulos eficientes ou ineficientes no feijoeiro (71). As estirpes nativas ou selecionadas de rizóbio são ineficientes e incapazes de suprir as necessidades de nitrogênio, durante todo o ciclo de crescimento da planta (14, 24). O incremento da fixação biológica do nitrogênio deve avaliar conjuntamente a planta hospedeira e as estirpes de rizóbio (37). A simbiose rizóbio-feijoeiro depende da compatibilidade genética de ambos, sendo que a planta desempenha papel preponderante nos estágios iniciais da nodulação, porém a eficiência da FBN no feijoeiro é influenciada tanto pela variedade de feijão como estirpe de rizóbio e a interação entre ambos (29, 34, 51). O processo de seleção de cultivares de feijão eficientes assim como rizóbios também eficientes precisa ser rigoroso (50).

Apesar do potencial de FBN no feijoeiro ser subestimado, estima-se que em cultivares de ciclo longo quando em condições favoráveis, podem apresentar taxas de fixação superiores a  $40 \text{ kg.ha}^{-1}$  de nitrogênio durante o ciclo da cultura, dependendo a eficiência de cada estirpe, e dos fatores relacionados a sua eficiência (29, 58, 70, 71). Com o uso de inoculação das sementes do feijoeiro, o processo de FBN pode ser benéfico, lembrando que o nitrogênio contribui com a maior parcela nos insumos agrícolas representando até 75% dos custos com fertilizantes (21, 34).

Os principais problemas com o rizóbio são fatores relacionados com o clima e as condições químicas e físicas deste solo. As bactérias do gênero *Rhizobium* que nodulam o feijoeiro foram as que mais alteraram suas estirpes em termos taxonômicos nos últimos anos (41, 57, 74). O grande desafio é de encontrar estirpes de rizóbio que quando introduzidos no feijoeiro, sejam eficientes na competição com rizóbios nativos do solo, e eficientes na FBN (71).

Os microsimbiontes preferências do feijoeiro diferem entre si, com relação a capacidade de reação a estresses ambientais, estudos mostram que estirpes de *Rizhobium tropici* podem atuar de forma mais eficiente como agente nodulante em condições de campo, necessitando de mais estudos para cada região, esses rizóbios são mais resistentes

a altas temperaturas, acidez do solo e são altamente competitivos, em condições de cultivo favoráveis são capazes de formar a maioria dos nódulos na planta e são geneticamente mais estáveis (5, 14, 34, 50).

A FBN no sistema rizobio-feijoeiro, em plantas de hábito de crescimento indeterminado, é mais eficiente nos cultivares de porte trepador do que nos não trepadores, devido ao ciclo de crescimento ser mais longo no feijoeiro de porte trepador, alterações na eficiência fotossintética da planta podem interferir o processo de FBN, as variedades de feijão de maturação tardia apresentam tendência maior de acúmulo de nitrogênio fixado simbioticamente (13,14).

O processo de fixação do  $N_2$  inicia-se de 3 a 4 semanas depois da germinação quando as plantas mostram sinais de estarem sendo beneficiadas, aos doze dias após a emergência uma nodulação de oito a quinze nódulos pode ser considerada satisfatória, ocorrendo, porém um aparecimento maior de nódulos nas raízes secundárias, no início da floração (R5) uma boa nodulação seria de 20 a 50 nódulos por planta, nódulos de 2 a 3 mm distribuídos na coroa da raiz com interior róseo são indicio de nodulação precoce e inoculação bem sucedida, enquanto uma nodulação predominantemente nas raízes secundárias indica a formação tardia de nódulos, podendo ser um indicio de condições ambientais adversas ou problemas na inoculação (5, 14, 34, 37, 49). Após a formação de vagens os nódulos entram em senescência e deixam de funcionar (35).

Um ponto que pode afetar a nodulação é provocado por muitos sais (adubos nitrogenados e potássicos) na proximidade das sementes, é o efeito inibidor da nodulação devido à alta concentração de nitrogênio perto das sementes (45, 48, 49, 66, 75).

A ausência de nódulos nem sempre é indicio de problemas de inoculação. Quando as plantas estão verdes e bem desenvolvidas, a ausência de nódulos indica boa disponibilidade e absorção de nitrogênio mineral do solo (5, 14). A produtividade do feijoeiro, com o fornecimento de nitrogênio via FBN, poderia triplicar, porém os inoculantes para a cultura são pouco utilizados pelos agricultores e pela extensão agropecuária, representando menos de 1% do mercado nacional, o investimento na difusão dessa tecnologia pode trazer um grande benefício para o país, aumentando a produção de grãos dessa leguminosa tão importante na alimentação dos brasileiros (34).

## 2.4 O NITROGÊNIO

### 2.4.1 Relações do nitrogênio com o solo e o meio

O nitrogênio na atmosfera encontra-se sob a forma de  $N_2$ , só é rompido durante tempestades, onde a energia das descargas elétricas fornece as condições necessárias para a quebra da molécula e a combinação do nitrogênio com o oxigênio, formando óxidos solúveis em água, os nitratos que podem ser absorvidos pelas plantas, cerca de 10% do  $N_2$  incorporado pelo o solo, é sob a forma de compostos orgânicos nitrogenados. Graças à atuação de organismos decompositores (fungos e bactérias) o  $N_2$  é convertido em  $NH_4^+$  (amônia), no processo conhecido como amonificação, lembrando que o  $NH_4^+$  presente nos solos é, freqüentemente, convertido a  $NO_3^-$  (nitrato) pelo processo conhecido como nitrificação, processo que ocorre em duas etapas, com a atuação de bactérias nitrificantes inicialmente, o  $NH_4^+$  é convertido a  $NO_2^-$  (nitrito) pela ação de bactérias do gênero *Nitrosomonas*, em seguida, o  $NO_2^-$  é convertido a  $NO_3^-$  a graças a bactérias *Nitrobacter*, esses sistemas biológicos incorporam cerca de duas centenas de milhões de ton métricas de nitrogênio acrescentadas à superfície terrestre a cada ano. Os compostos nitrogenados das plantas clorofiladas retomam ao solo com a morte das mesmas, sendo reprocessados pelos organismos e microrganismos do solo, absorvidos pelas raízes sob a forma de nitrato dissolvido na água do solo e reconvertidos em compostos orgânicos. Em alguns solos, as bactérias desnitrificantes decompõem os nitratos e liberam nitrogênio para o ar. O nitrogênio pode ser perdido do solo devido à lixiviação, ou a desnitrificação (9, 33, 42, 47, 61).

Os processos produtivos também retiram nitrogênio do solo, quanto mais se retira o nitrogênio existente no solo, seja através de manejo do solo ou extração das próprias culturas, menor sua capacidade de reposição. As propriedades físicas do solo como a umidade, temperatura, aeração; as relações químicas como as quantidades de C/N, C/S, C/P, e biológicas são fatores que interferem na mineralização do nitrogênio do solo (19, 45, 60), se existir uma alta proporção do nitrogênio presente no solo como  $NO_3^-$ , este não estará disponível para as plantas, estará imobilizado, isso ocorre quando existe excesso de C/N este desequilíbrio tende a normalizar-se à medida que o carbono é fornecido sob a forma de dióxido de carbono pela respiração microbiana, e à medida que aumenta a relação C/N no solo. No ecossistema natural, os processos de minelização e imobilização estão em equilíbrio (9, 60). Como alternativa para evitar essas perdas do solo pode-se optar pela incorporação de resíduos vegetais e rotação de culturas que além de aumentarem a palhada no solo proporcionam condições para um bom desenvolvimento da vida microbiológica do solo, essa pratica melhora as condições físicas desse solo como: (a) aeração, (b) capacidade de retenção de água, (c) porosidade, (d) consistência, (e) densidade, (f) infiltração e (g) aeração (11).

O nitrogênio muitas vezes existe na camada arável do solo com teores que podem variar 0,08 a 0,4%, o que não supre a demanda da cultura tendo que ser suplementado, porém o nitrogênio mineral quando aplicado em excesso pode acarretar problemas na sua interação com os microorganismos existentes no solo (1).

A indústria produz em torno de 28 milhões de ton métricas, sendo a maior parte utilizada como fertilizantes, o processo industrial contribui com cerca de 15% do  $N_2$  colocado no solo (29), nas ultimas década o incremento no uso de fertilizantes minerais (principalmente os nitrogenados), o uso da mecanização e dos agrotóxicos de forma inadequada, vem apresentando sérios problemas de degradação ambiental e gradativa queda de produtividade (11).

Uma quantidade grande dos de fertilizantes nitrogenados que são empregados na agricultura são perdidos para o meio, quando em excesso no solo aumentam do processo de formação de nitritos podendo, ser perdido por lixiviações e escoamento superficial de contaminando os lençóis freáticos, depreciando a qualidade das águas, ou sendo absorvido pelas plantas ficando na forma de nitrogênio não protéico, podendo trazer fitotoxidez, ou aumentando as exudações foliares de carboidratos podendo atrair incidência de pragas e doenças (65).

#### 2.4.2 O nitrogênio e a planta

As plantas superiores requerem um total de 16 elementos para seu crescimento normal, o C, H e o O, esses provém do ar e da água, o restante é absorvido pelas raízes sob forma de íons classificados como macronutrientes: N, K, Ca, P, Mg e S e micronutrientes: Fe, Cl, Cu, Mn, Zn, Mo e Bo. Esses elementos desempenham funções vitais nas plantas (1, 33, 64). O N é um nutriente que apresenta peculiaridades que dificultam ainda mais o seu manejo, complexas reações bioquímicas que influenciam a sua dinâmica, disponibilidade e eficiência no aproveitamento pelas plantas (60).

O  $N_2$  move-se para dentro da planta através dos estômatos, saindo logo em seguida, sem que possa ser utilizado. Mas o nitrogênio que vai ser utilizado pela planta pode ser absorvido pela raiz na forma de nitrato ( $NO_3^-$ ) ou amônio ( $NH_4^+$ ), dependendo do pH da rizosfera, a incorporação de nitrogênio ocorre nas células jovens e em crescimento nas raízes, ascendendo no xilema do caule (33, 42). A planta é capaz de sintetizar todos os aminoácidos necessários a partir do nitrogênio inorgânico. O nitrogênio é o quarto elemento mais abundante nas plantas, é um nutriente crítico para o desenvolvimento das plantas, pois seu suprimento no solo é limitado; tem papel estrutural. Sendo componente de



aminoácidos, e outros compostos nitrogenados, tem como funções o favorecimento para a absorção iônica nos aminoácidos e proteínas, o fornecimento de energia para a fotossíntese, e a formação de outros compostos das bases nitrogenadas, assim como na respiração as trocas gasosas são dependentes da energia promovida de compostos que possuem o nitrogênio estrutural e nos compostos dos ácidos nucleicos que contem a molécula de nitrogênio também de forma estrutural, na biossíntese de enzimas, coenzimas e vitaminas o nitrogênio tem papel fundamental, na multiplicação e diferenciação celular de glico e lipoproteínas e na herança de pigmentos e produtos secundários. Outros importantes compostos orgânicos nitrogenados incluem os nucleótídios, como ATP, ADP, NAD e NADP; pode ser encontrado na sua forma estrutural no centro da molécula de proteínas sendo parte da molécula de clorofila e outras moléculas orgânicas semelhantes com anéis de porfirina, e os ácidos nucleicos DNA e RNA. Muita das vitaminas, com o grupo das vitaminas B, contém nitrogênio. O nitrogênio é transportado dentro da planta via xilema (9,33, 42, 64).

#### 2.4.2.1 O processo em que ocorre a fixação de nitrogênio nas plantas

A maioria das plantas obtém o nitrogênio do solo sob a forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), havendo algumas que o absorvem sob a forma de amônia ( $\text{NH}_4^+$ ), esse íon é tóxico para as plantas, assim logo que é absorvido pelas raízes, é assimilado pelas enzimas GS e GOGAT, formando os aminoácidos glutamina e glutamato. A assimilação do  $\text{NO}_3^-$  é um processo de redução, que culmina com a formação de  $\text{NH}_4^+$ , no qual duas enzimas estão envolvidas: a nitrato redutase (enzima citoplasmática) e a nitrito redutase (enzima existente nos plastídios ou cloroplastos). Inicialmente, o  $\text{NO}_3^-$  é reduzido a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) pela ação do nitrato redutase e, em seguida reduzido a  $\text{NH}_4^+$  pela ação do nitrito redutase. Este processo de redução requer energia, os íons amônio formados pelo processo de redução são transferidos a compostos carbonados para produzir aminoácidos e outros compostos orgânicos nitrogenados, esse processo é conhecido como aminação. Outros aminoácidos são formados pela transaminação, que é a transferência do grupamento amino ( $-\text{NH}_2$ ) de um aminoácido para formar outro aminoácido, sendo assim assimilados pelas plantas (33, 42, 61).

#### 2.4.3 Processo de produção dos adubos nitrogenados

A forma de  $N_2$  é composta por uma molécula que une dois átomos de nitrogênio por *uma tripla ligação extremamente estável, portanto requer uma elevada energia de ativação* para que venha reagir com outros elementos, seu processo de industrialização para sua utilização comercial na agricultura exige alta tecnologia, com controle de grandes variações de pressões e temperatura o que acarreta custos relativamente altos desses fertilizantes. Em laboratório ou em indústria o processo para romper a molécula e combinar seus átomos com hidrogênio, formando amônia e daí partindo para outros produtos, como uréia, sulfato de amônio e outros, recebe o nome de Haber-Bosch, utiliza temperaturas em torno de 300-600 °C e pressões em torno de 200-800 atm, sendo dispendiosa do ponto de vista energético. Portanto é um sistema altamente consumidor de energia, em termos de combustíveis fósseis, atualmente estima-se que são utilizados dois milhões de barris de óleo por dia, o que torna os derivados de nitrogênio produtos relativamente caros (9, 29, 64). A indústria de fertilizantes nitrogenados contribui com risco de resíduos poluentes ao meio ambiente.

#### 2.4.4 Adubação nitrogenada no feijoeiro

O nitrogênio é o nutriente absorvido em maior quantidade pelo feijoeiro. Os fertilizantes nitrogenados recomendados para a cultura são a uréia, amônia gasosa ou sulfato de amônia, nitrato ou nitrofosfatos, a cultura do feijão tem apresentado freqüentes respostas à adubação nitrogenada, tornando-se fundamental a adubação nitrogenada (66, 45, 28), embora em diferentes magnitudes, sendo sempre recomendado em fórmulas de adubação (76). O maior acúmulo de nitrogênio na planta ocorre entre 35 a 50 dias após a germinação coincidindo com a época do florescimento, pois a planta tem sua taxa de crescimento mais elevada, neste período a planta absorve de 2,0 a 2,5 kg N/ha.dia, e termina depois que começa a formação de vagens, a absorção de nitrogênio ocorre praticamente durante todo o ciclo da cultura (62, 63). A adubação de plantio de 10 a 20 kg/ha e uma em cobertura de 20 a 40 kg/ha em torno de 30 dias após a germinação tem resultado em maior rendimento que aplicações nitrogenadas sucessivas, pois após o florescimento o potencial de resposta é pequeno (46, 44, 45, 56, 60, 76). As maiores produções em resposta ao nitrogênio aplicado via fertilizantes nitrogenados tem sido obtidas quando o teor de fósforo presente no solo encontra-se entre médio e alto, e o teor de umidade é suficiente para facilitar o transporte de nutrientes e suprir as necessidades da cultura (45, 54, 56).

Quando há simbiose, o nitrogênio é fixado em quantidades consideráveis a partir de 35-40 dias da emergência da cultura; desta forma, a adubação nitrogenada deve ser efetuada antes disso. Normalmente se recomenda a aplicação de 1/3 da dose de N na semeadura, e 2/3 devem ser aplicados até os 20 dias da emergência da cultura, pois após o florescimento o potencial de resposta é pequeno (14, 67, 66).

O nitrogênio é um nutriente cuja presença ou ausência afeta a simbiose de várias formas (53). Em excesso, o nitrogênio mineral pode causar uma diminuição da eficiência simbiótica, porém quando em pequenas quantidades aplicadas na cultura do feijão, permite um aumento no crescimento dos nódulos e maior fixação de nitrogênio, sendo que teor muito baixo de nitrato no solo pode ser limitantes à atividade simbiótica, a nodulação e a fixação biológica de nitrogênio pelo feijoeiro responderam positivamente ao aumento dos teores de P, K e S do solo, e que quando o feijoeiro recebe um balanço adequado de nutrientes, ocorre um efeito sinérgico da adubação nitrogenada sobre a nodulação e fixação do nitrogênio (2, 53, 60, 73, 43).

### 3 METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em Casa de Vegetação do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizada no município de Curitiba - PR, no período de outubro de 2001 a janeiro de 2002.

#### 3.1 OBTENÇÃO E PREPARO DO SUBSTRATO

O solo utilizado foi coletado, na camada arável de 0,0-0,20 m, de uma área de cultivo de culturas anuais da área da Estação Experimental do Canguiri (EEC) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), localizada no município de Pinhais, PR. Pertence a unidade de mapeamento LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO Distrófico típico, A proeminente, textura argilosa, fase campo subtropical e relevo suave ondulado (15). As análises químicas, antes e depois da complementação do nível de fertilidade do solo, mediante adubação com fósforo (P) e potássio (K), nas formas de superfosfato simples (20% de  $P_2O_5$ ) e cloreto de potássio (60% de  $K_2O$ ) e nas dosagens de  $75 \text{ kg.ha}^{-1}$  ou  $6,88 \text{ g.vaso}^{-1}$  e  $25 \text{ kg.ha}^{-1}$  ou  $1,20 \text{ g.vaso}^{-1}$ , respectivamente (44, 45, 56, 62, 63) foram efetuadas para garantir a extração da cultura até o final do ciclo, pois as condições de fertilidade já se encontravam elevadas, e as análises granulométricas do solo foram realizadas no Laboratório de Fertilidade do Solo do Departamento de Solos da UFPR. Os resultados encontram-se na Tabela 1.

TABELA 1 - Características químicas e físicas do solo (antes e depois de adubação de correção de fósforo (P) e potássio (K)).

| 1. Características químicas do solo <sup>1</sup>                                     |                     |                            |   |                           |                          |                                    |      |                  |          |
|--|---------------------|----------------------------|---|---------------------------|--------------------------|------------------------------------|------|------------------|----------|
| pH<br>(CaCl <sub>2</sub> )   | pH                  | C<br>(g.dm <sup>-3</sup> ) | P<br>(mg.dm <sup>-3</sup> )                     | K <sup>+</sup>            | Ca <sup>+2</sup>         | Ca <sup>+2</sup> +Mg <sup>+2</sup> | H+Al | Al <sup>+3</sup> | V<br>(%) |
| 5,6  | 6,1                 | 29,3                       | 25,0  | 0,44                      | 11,10                    | 16,40                              | 6,70 | 0                | 71,54    |
| 2. Características químicas do solo após adubação de correção com P e K <sup>1</sup> |                     |                            |   |                           |                          |                                    |      |                  |          |
| pH<br>(CaCl <sub>2</sub> )   | pH                  | C<br>(g.dm <sup>-3</sup> ) | P<br>(mg. dm <sup>-3</sup> )                    | K <sup>+</sup>            | Ca <sup>+2</sup>         | Ca <sup>+2</sup> +Mg <sup>+2</sup> | H+Al | Al <sup>+3</sup> | V<br>(%) |
| 5,6  | 6,1                 | 29,3                       | 27,0  | 0,74                      | 11,10                    | 16,40                              | 6,70 | 0                | 73,44    |
| 3. análise das características físicas do solo <sup>1</sup>                          |                     |                            |   |                           |                          |                                    |      |                  |          |
| Frações da amostra total (g.kg <sup>-1</sup> )                                       |                     |                            | Composição granulométrica (g.kg <sup>-1</sup> ) |                           |                          |                                    |      |                  |          |
| Calhau<br>200-20 mm  | Cascalho<br>20-2 mm | Terra fina<br>< 2 mm       | Areia grossa<br>2-0,2 mm                        | Areia fina<br>0,2-0,05 mm | Silte (mm)<br>0,05-0,002 | Argila<br>< 0,002 mm               |      |                  |          |
| Zero   | Zero                | 100                        | 100   | 80                        | 440                      | 380                                |      |                  |          |

### 3.2 CONDUÇÃO DO EXPERIMENTO

#### 3.2.1 Preparo dos vasos

Os vasos tinham capacidade de 4,9 kg de solo, estes foram cheios com o substrato peneirado, foi feito à adubação de P e K, sendo esta homogeneizada em cada vaso. Manteve-se a umidade do solo em torno de 75% da capacidade de saturação, por meio de diferenças de pesagens entre solo seco e úmido. Primeiramente foi feita a saturação total deste solo até que ocorresse a percolação completa de água nos vasos, os vasos foram mantidos cobertos com plásticos para evitar a perda de umidade excessiva, para atingirem o peso ideal relativo à umidade desejada, os vasos eram descobertos durante pequenos períodos diários por uma semana, podendo perder a umidade excessiva, para manter o controle da umidade no decorrer do experimento foram deixados quatro vasos de controle nos quais eram realizadas as pesagens e conforme a diferença de peso a quantidade de água que deveria ser adicionada em cada vaso era calculada.

#### 3.2.2 Inoculação

Os tratamentos inoculados foram preparados no dia da semeadura, com o uso de 1 Kg de inoculante para 50 Kg de sementes de feijão, o processo de inoculação foi realizado dissolvendo-se 150 g de açúcar cristal em um litro d'água para aumentar a aderência do inoculante às sementes, a solução açucarada foi misturada com o inoculante formando uma calda homogênea, as sementes foram misturadas com a calda numa operação manual, deixadas secar em ambiente fresco até o momento da semeadura (14, 73).

O inoculante<sup>1</sup> utilizado é recomendado para a cultura do feijoeiro, conhecido como inoculante em pó especial para feijão, sua formulação é de turfa esterilizada e bactérias fixadoras de nitrogênio do gênero *Rizhobium tropici* SEMIA 4077 e SEMIA 4080 com concentração bacteriana mínima de  $10^7$  Rh/g.

#### 3.2.3 Semeadura

A semeadura foi manual no dia 23/outubro/2001, utilizando-se 6 sementes por vaso do cultivar "FT BIONOBRE" (Tipo II - crescimento indeterminado de porte ereto e ciclo

---

<sup>1</sup> Inoculante comercial da Turfal – Com registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Reforma Agrária (E.P.PR – 06796 –5).

intermediário, cerca de 80 a 100 dias); possui sementes com tegumento de cor preto fosca e destaca-se pela produtividade e qualidade de grãos (30).

### 3.2.4 Adubação Nitrogenada

A adubação nitrogenada na forma de uréia foi incorporada ao solo na semeadura e cobertura dissolvida em água, a adubação nitrogenada foi feita utilizando-se 60 Kg. ha<sup>-1</sup> de uréia ou 5,82 g de nitrogênio por vaso, (44, 45, 56, 62, 63) sendo 1/3 na semeadura ou 1,92 g de nitrogênio por vaso e 2/3 em cobertura ou 3,90 g de nitrogênio por vaso. Após a aplicação de nitrogênio em cobertura o ensaio era irrigado em função do peso dos vasos controle, visando minimizar as perdas de nitrogênio por volatilização, escoamento e lavagem.

### 3.2.5 Condições Climáticas

O trabalho realizado em casa de vegetação, facilitando o monitoramento diário da temperatura do ar calculando-se a temperatura média num período de 24 horas, temperatura do solo e umidade relativa para avaliar os dados das condições climáticas nos estádios de crescimento, os resultados encontram-se na Tabela 2. As plantas daninhas emergidas nos vasos foram controladas por meio de mondas. Não houve incidência de pragas ou de doenças, não havendo necessidade de controle.

TABELA 2 - Resultados da avaliação das temperaturas médias (T°C) do ar e do solo e umidade relativa (U.R.%) durante os estádios de desenvolvimento da cultura do feijoeiro

| Estádios <sup>1</sup> | V <sub>0</sub> | V <sub>1</sub> | V <sub>2</sub> | V <sub>3</sub> | V <sub>4</sub> | R <sub>5</sub> | R <sub>6</sub> | R <sub>7</sub> | R <sub>8</sub> | R <sub>9</sub> |
|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|                       | 2 dias         | +3 dias        | +8 dias        | +9 dias        | +10 dias       | +10 dias       | +12 dias       | +11 dias       | +17 dias       | +20 dias       |
|                       |                | 5 dias         | 13 dias        | 21 dias        | 31 dias        | 41 dias        | 53 dias        | 64 dias        | 81 dias        | 101 dias       |
| Período Acumulado     |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |
| T°C média ar          | 30,3           | 25,9           | 26,7           | 24,3           | 26,9           | 27,9           | 26,4           | 26,9           | 25,3           | 25,8           |
| T°C média solo        | 26,8           | 24,3           | 27,2           | 23,5           | 27,8           | 25,7           | 27,8           | 29,8           | 27,6           | 27,2           |
| U.R.(%)               | 63             | 56             | 58             | 57             | 66             | 63             | 61             | 64             | 68             | 63             |

<sup>1</sup> estádios descritos segundo Fernandez et al.

### 3.3 PARÂMETROS AVALIADOS

Foram realizadas duas épocas de avaliação na floração (R6), pois ser a melhor época para avaliar a massa seca e a quantidade de nitrogênio presente na parte aérea, além de ser o momento mais indicado para avaliação do número de nódulos que após o florescimento se tornam inativos e morrem e na maturação fisiológica (R9) é a época onde todos os componentes de rendimento poderiam ser avaliados pois a planta já apresenta seu ciclo completo e o enchimento de vagem já ocorreu, podendo-se assim determinar uma produtividade por planta.

#### 3.3.1 AVALIAÇÕES NA FLORAÇÃO (R6)

Foram as seguintes: (a) massa seca da planta, as plantas foram cortadas rente ao solo deixando as raízes nos vasos, determinando-se a massa fresca, colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60-70 °C até atingir peso constante para determinação de massa seca; (b) nitrogênio total da parte aérea, utilizando as plantas oriundas da determinação de massa seca, que foram moídas em moinho tipo Willey e submetidas à digestão úmida (67), procedendo-se a destilação em digestor de nitrogênio microkjeldhal; (c) número de nódulos por planta, as raízes foram deixadas nos vasos até sua retirada sem danificar os nódulos, utilizou-se de lavagens sucessivas dessas raízes com água até a retirada completa do solo sempre com uma peneira de malha fina para não perder material desprendido, pode-se retirar os nódulos das raízes limpas e proceder à contagem manual, as raízes foram pesadas com seu peso fresco, colocadas para secar em estufa com circulação forçada de ar a 60-70 °C até atingir peso constante para somar-se ao peso de massa seca de planta.

#### 3.3.2 AVALIAÇÕES NA MATURAÇÃO FISIOLÓGICA (R9)

Foram as seguintes: (a) número médio de vagens por vaso, (b) número médio de grãos por vaso, (c) massa de grãos por vaso, que foram secos até umidade de 13% transformando-se a massa obtida em  $\text{kg.ha}^{-1}$ , para determinar a produtividade e (d) massa de 100 grãos por vaso estimada e (e) produtividade estimada, calculada extrapolando a produtividade para 250 mil planta. $\text{ha}^{-1}$ , toda contagem foi de forma manual, e revisada.

### 3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E DESCRIÇÃO DOS TRATAMENTOS

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com doze tratamentos e quatro repetições, em arranjo fatorial 2X6, sendo com presença e ausência de inoculante e seis épocas de aplicação de nitrogênio, totalizando 48 vasos. A unidade experimental foi composta com duas plantas úteis por vaso. Os vasos foram distribuídos aleatoriamente sobre as mesas da estufa, semanalmente os vasos eram trocados de posição na mesma mesa a fim de diminuir efeitos de distribuição dessas mesas dentro da casa de vegetação, a descrição dos tratamentos encontra-se na Tabela 3.

TABELA 3 - Descrição dos tratamentos.

| Tratamentos | Inoculante | Épocas de aplicação de N             |
|-------------|------------|--------------------------------------|
| T1          | Com        | Sem                                  |
| T2          | Com        | Semeadura                            |
| T3          | Com        | Semeadura e cobertura V <sub>3</sub> |
| T4          | Com        | Semeadura e cobertura R <sub>5</sub> |
| T5          | Com        | Cobertura V <sub>3</sub>             |
| T6          | Com        | Cobertura R <sub>5</sub>             |
| T7          | Sem        | Sem                                  |
| T8          | Sem        | Semeadura                            |
| T9          | Sem        | Semeadura e cobertura V <sub>3</sub> |
| T10         | Sem        | Semeadura e cobertura R <sub>5</sub> |
| T11         | Sem        | Cobertura V <sub>3</sub>             |
| T12         | Sem        | Cobertura R <sub>5</sub>             |

Os resultados foram submetidos a análise estatística, verificando-se primeiramente a homogeneidade das variâncias, pelo teste de Bartlett. As variáveis cujas variâncias se mostraram homogêneas tiveram seus tratamentos analisados por meio do teste F. Quando este revelou existirem diferenças estatisticamente significativas entre médias de tratamentos, estas foram comparadas pelo teste de Tuckey a 5% de probabilidade (31).



## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 AVALIAÇÕES NA FLORAÇÃO (R6)

Os resultados da análise de variância, apresentados no Anexo 1, para o experimento desenvolvido em casa de vegetação com o feijoeiro da variedade FT Bio Nobre (duas plantas úteis por vaso), avaliados 53 dias após a semeadura (estádio R6), indicam que os fatores com e sem inoculante e as épocas de aplicação de nitrogênio são independentes para variável massa seca de planta, tendo em vista que a interação dos fatores não foi significativa, para comparação das médias (Tukey: 5%) ocorreram diferenças significativas somente entre as épocas de aplicação de nitrogênio apresentados na Tabela 4; já para as variáveis, nitrogênio total da parte aérea e número de nódulos por vaso os fatores com e sem inoculante e épocas de aplicação de nitrogênio são dependentes, tendo em vista que a interação dos fatores foi significativa (Anexo 1).

Na Tabela 5, podemos observar a comparação das médias (Tukey: 5%) para o nitrogênio total da parte aérea e número de nódulos, na variável nitrogênio total da parte aérea as diferenças foram significativas apenas para o fator com e sem inoculante, as épocas de aplicação de nitrogênio não diferiram, e para variável número de nódulos houve diferenças significativas para os fatores com e sem inoculante e épocas de aplicação de nitrogênio.

TABELA 4 - Valores médios obtidos da massa seca da parte aérea da planta do feijoeiro "FT BIONOBRE", com seis épocas de aplicação de nitrogênio.

| Tratamentos      | Massa seca de planta<br>(g) |
|------------------|-----------------------------|
| Com inoculante   | 73,97 a                     |
| Sem inoculante   | 80,30 a                     |
| Sem N            | 57,39 c                     |
| N Semeadura      | 78,31 ab                    |
| N Semeadura e V3 | 88,40 a                     |
| N Semeadura e R5 | 82,69 ab                    |
| N V3             | 92,28 a                     |
| N R5             | 63,70 bc                    |

Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade  
Foi utilizado o material correspondente a duas plantas úteis por vaso.

TABELA 5 - Valores médios obtidos do nitrogênio total da parte aérea e número de nódulos por planta, no feijoeiro "FT Bio Nobre", com e sem *Rhizobium tropici* via inoculação de sementes, e seis épocas de aplicação de nitrogênio.

| Tratamentos    |                  | Nitrogênio total da<br>parte aérea<br>(g.kg <sup>-1</sup> ) | Numero de nódulos |
|----------------|------------------|---|-------------------|
| Com inoculante |                  | 39,6 a  | 87,3 a            |
| Sem inoculante |                  | 38,4 a  | 34,8 b            |
| Inoculante     | Épocas de N      |   |                   |
| Com            | Sem N            | 39,7 a  | 111,5 a           |
|                | N Semeadura      | 38,3 a  | 71,7 b            |
|                | N Semeadura e V3 | 38,7 a  | 74,5 b            |
|                | N Semeadura e R5 | 40,4 a  | 70,5 b            |
|                | N V3             | 39,9 a  | 95,0 ab           |
|                | N R5             | 40,6 a  | 100,2 ab          |
| Sem            | Sem N            | 30,0 b  | 28,0 a            |
|                | N Semeadura      | 38,6 a  | 39,0 a            |
|                | N Semeadura e V3 | 39,3 a  | 32,5 a            |
|                | N Semeadura e R5 | 40,8 a  | 31,3 a            |
|                | N V3             | 41,0 a  | 37,0 a            |
|                | N R5             | 40,8 a  | 41,5 a            |

Médias seguidas da mesma letra minúscula não diferem estatisticamente pelo teste de Tuckey ao nível de 5% probabilidade.

Foi utilizado material de duas plantas úteis por vaso.

#### 4.1.1 Massa seca da planta

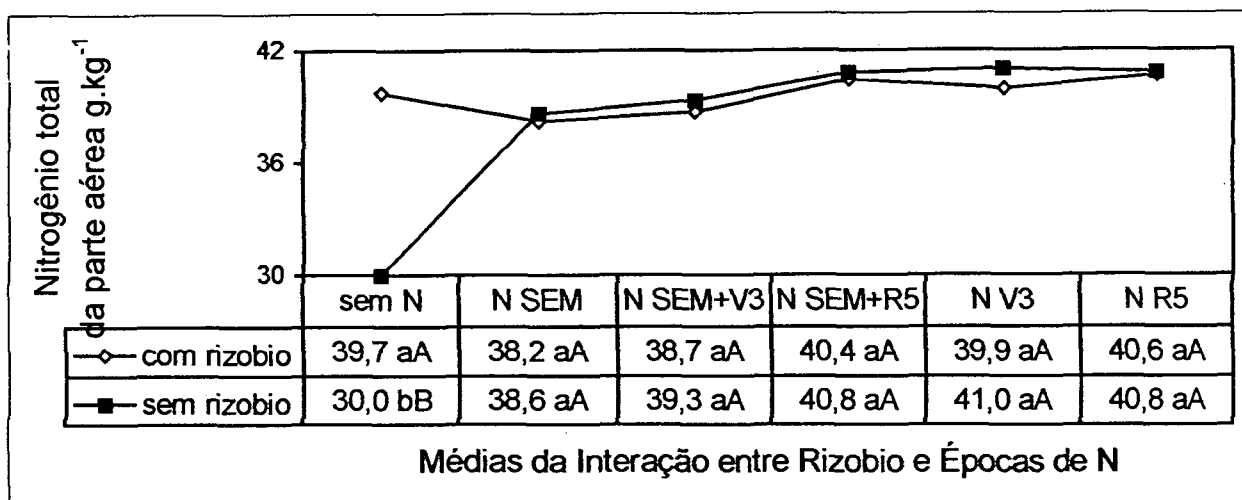
A massa seca da parte aérea na variedade de feijão FT Bio Nobre, foi influenciada diretamente pelas épocas de aplicação de nitrogênio, os melhores resultados apresentam-se quando o nitrogênio foi aplicado na semeadura, semeadura e em V3, semeadura e em R5 e em V3 (Tabela 4). As diferentes épocas de aplicação nitrogênio tiveram respostas diferentes utilizando – se a dose recomendada para o feijoeiro de 60 kg.ha<sup>-1</sup> (44, 45, 56, 60), houve um melhor resultado ao aumento da massa seca, pois o nitrogênio é um elemento essencial para o desenvolvimento da planta e seu fornecimento nos estágios iniciais faz diferença para acúmulo de massa, pois é um nutriente absorvido até a fase R5 período entre os 50 dias iniciais conforme trabalhos realizados a campo (62,63). Na variedade estudada a fase R5 ocorreu aos 41 dias após a semeadura, mas a resposta não foi tão significativa,

nesta fase a adubação nitrogenada só acrescentou 15% de acréscimo na matéria seca da planta em relação a testemunha, as melhores épocas de aplicação de nitrogênio no experimento ocorreram até os 21 dias após a semeadura coincidindo com os tratamentos de aplicação de nitrogênio na semeadura e V3 e somente em V3. As diferenças nos acréscimos de massa seca para a testemunha variam muito entre as épocas de aplicação, quando o nitrogênio foi aplicado somente na semeadura houve um acréscimo de 20% na massa produzida, já quando aplicado na semeadura e V3 o acréscimo ficou em torno de 30%, a aplicação do nitrogênio na semeadura e R5 representou acréscimo de 25%, e o melhor acréscimo 35% em relação a testemunha, ocorreu quando o nitrogênio foi disponibilizado apenas em V3, demonstrando resposta a FBN, e os níveis satisfatórios de nitrogênio no solo. Não houve resposta à inoculação quanto a produção de massa seca (45,49) houve uma dependência de aplicação de nitrogênio sendo os melhores resultados obtidos nos tratamentos onde o nitrogênio foi disponibilizado na semeadura e cobertura, apesar de não observarmos um efeito significativo da inoculação sobre a produção de matéria seca, verificamos uma tendência dessa ser maior nos tratamentos com adubação nitrogenada (49).

#### 4.1.2 Nitrogênio total da parte aérea

Os resultados do nitrogênio total presente na parte aérea (Tabela 5) demonstraram que as plantas tiveram condições favoráveis para um bom desenvolvimento da cultura, sendo o nitrogênio um elemento essencial, a quantidade absorvida vai determinar o desenvolvimento da planta (45). Portanto o nutriente esteve disponível durante as fases mais críticas do desenvolvimento da cultura, fases dos estádios vegetativos, estando disponível tanto no solo inorganicamente como na forma de fertilizantes ou através da absorção feita pela FBN (42, 54, 77), tanto pelos rizóbios nativos como pelos rizóbios inoculado, pois mesmo os rizóbios nativos fixam nitrogênio, mas as taxas de eficiência podem ser consideradas baixas. O solo já apresentava características que indicavam ser um solo com boa fertilidade, foi retirado de uma área de cultivo rotacional, apresentava condições químicas e físicas favoráveis (11), a correção com fósforo e potássio conseguiram manter-se em níveis satisfatórios até o final do ciclo da cultura do feijoeiro, estiveram adequados, os demais nutrientes estiveram em condições de disponibilidade adequadas (44, 60, 62). A adubação realizada com uréia ( $60 \text{ kg.ha}^{-1}$ ), esteve correta, pois os níveis de nitrogênio na parte aérea foram adequados (44).

FIGURA 1 - Valores médios de nitrogênio total da parte aérea resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.



Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A adubação nitrogenada e o estabelecimento da simbiose resultaram em mais de nitrogênio na parte aérea, em relação a testemunha (11,17). Houve um incremento na quantidade de nitrogênio assimilado na planta tanto pela FBN quanto pela adubação mineral, a planta pode se beneficiar duplamente garantindo bom desenvolvimento (46, 55, 63). Em relação aos resultados das médias dos tratamentos para o nitrogênio total da parte aérea, nota-se que todos os resultados estão acima do nível crítico de nitrogênio para a cultura, que é de  $30 \text{ g.kg}^{-1}$  (2, 11, 17), apesar da testemunha estar no limite (Figura 1). Mesmo com o estabelecimento da simbiose, o nitrogênio disponibilizado antes dos 35 dias após a semeadura, mostraram uma tendência de menor acumulo, já era esperado pois o nitrogênio fixado pela simbiose é fixado em maiores quantidades a partir de 35 dias após emergência das plantas (14).

A diferença entre os dois tratamentos com e sem inoculante e sem adubação nitrogenada foi significativa como mostra a Figura 1, houve um acréscimo em torno de 30% no acumulo de nitrogênio no tratamento que recebeu inoculação nas sementes, demonstrando que os rizóbios inoculados foram superiores aos rizóbios nativos.

A importância de práticas que mantenham a fertilidade do solo é indispensável para uma boa nutrição vegetal. O nitrogênio presente no solo precisa de práticas de manejo que incorporem restos vegetais e mantenham o equilíbrio biológico deste solo, interagindo de forma correta com a planta e solo (8, 11, 22), o solo utilizado no experimento vinha de uma área de rotação de culturas, e o teor de M.O. neste solo era relativamente boa, o que pode justificar em parte o nitrogênio acumulado pela testemunha. A adubação feita racionalmente serve de equilíbrio para a extração de certos nutrientes exigidos em maiores quantidades

pelas plantas. No caso do feijão a calagem beneficia a quantidade de Ca e Mg além de Co e Mo essenciais ao bom desenvolvimento (7, 28, 58). A adubação com Fósforo e Potássio também são uma prática necessária para o feijoeiro expressar seu potencial produtivo. A qualidade das sementes e práticas de cultivo mais conservacionistas auxiliam no bom desenvolvimento da cultura e do solo (11, 22).

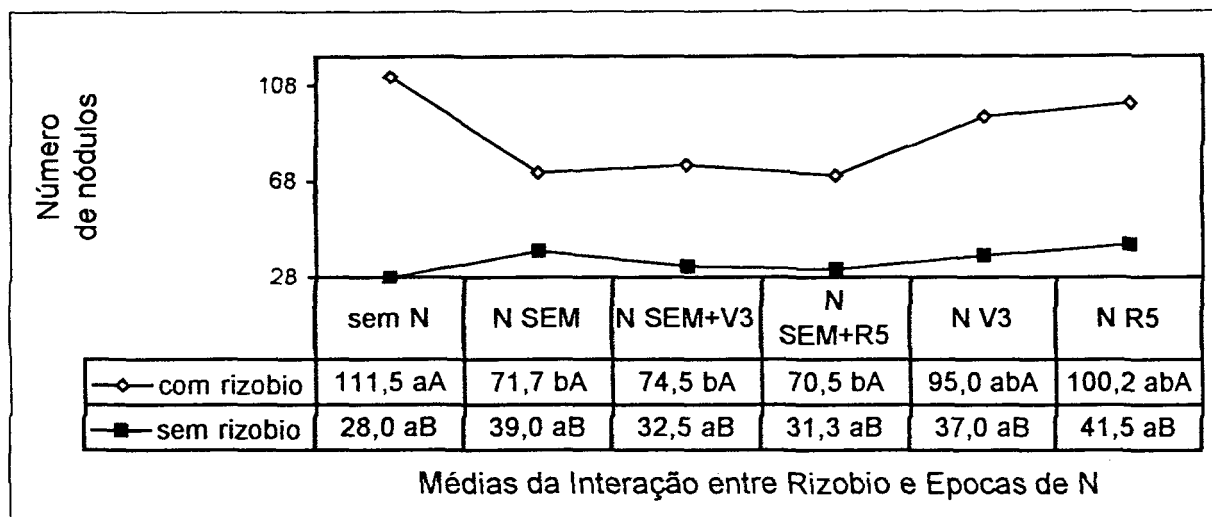
#### 4.1.3 Número de nódulos

Podemos observar na Tabela 5, que nos tratamentos que receberam inoculação com o *Rhizobium tropici* o número de nódulos foi superior aos tratamentos sem inoculante, porem nos tratamentos onde acrescentou -se nitrogênio na semeadura o número de nódulos reduziu, mas onde o nitrogênio foi acrescentado em cobertura o efeito foi positivo, não interferindo mais na simbiose (14, 27, 49). As épocas de nitrogênio onde houve aplicação na semeadura levaram a uma diminuição no número de nódulos nativos ou introduzidos, fato que mostra a interferência do nitrogênio sobre o estabelecimento da simbiose (44, 49, 73), os tratamentos não inoculados também apresentaram nódulos, confirmando a presença de rizóbios nativos no solo podem ter limitado o estabelecimento da estirpe inoculada (37, 71).

Vários fatores bióticos e abióticos relacionados com a planta e o meio podem interferir no estabelecimento da nodulação. Existe um sistema regulatório nas plantas que diminui a necessidade da formação de nódulos nativos ou introduzidos quando a presença de nitrogênio inorgânico ou mineral encontra-se disponíveis facilmente. A planta diminui a formação de nódulos e estes se tornam menos eficientes pela presença de nitratos na planta (33, 73). As condições de umidade do solo e pH são fatores que podem inibir a nodulação, mas nas condições que se encontrava o solo utilizado neste experimento esses fatores não interferiram a nodulação (14). A eficiência da inoculação pode ser garantida quando existir mais de dois nódulos por raiz, uma nodulação de oito a quinze nódulos pode ser considerada satisfatória, no início da floração uma boa nodulação seria de 20 a 50 nódulos por planta, são indicio de nodulação precoce e inoculação bem sucedida (14, 73). A competitividade entre rizóbios e outros organismos existentes no solo pode ser outro fator limitante, mesmo dentro de um grupo de rizóbios, de mesma raça, existe competitividade, pois a quantidade e qualidade dos inoculantes dependem, da concentração de células existentes e ativas no momento da inoculação, problemas de armazenagem e transporte do inoculante além de problemas no processo de nodulação também vão influenciar a fixação de nitrogênio pelas bactérias (11, 5).

Na Figura 2, as médias da interação entre os tratamentos com e sem inoculante e as épocas de aplicação de nitrogênio, mostram diferenças. Pois o rizóbio nativo esteve presente em menor número que o rizóbio inoculado, ambos sentiram a presença de nitrogênio aplicado na semeadura, onde ocorreu redução do número de rizóbios. Os nódulos dos rizóbios nativos eram significativamente menores que os nódulos do rizóbio inoculado, porém serve apenas como diferenciação visual.

FIGURA 2. Valores médios do número de nódulos por vaso resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.



Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

As diferenças nos resultados do número de nódulos entre os tratamentos utilizando a inoculação com *Rhizobium tropici* e não inoculado demonstrou que este é eficiente no processo de nodulação, sendo mais competitivo que os rizóbios nativos (14, 5, 27), os melhores resultados encontram-se quando o nitrogênio não foi aplicado na semeadura, o nitrogênio é um nutriente que pode inibir a nodulação quando em excesso no solo (66). Como as condições de fertilidade do solo estavam adequadas e os níveis de P e K eram altos e médio respectivamente a nodulação responde de forma mais positiva (58,62).

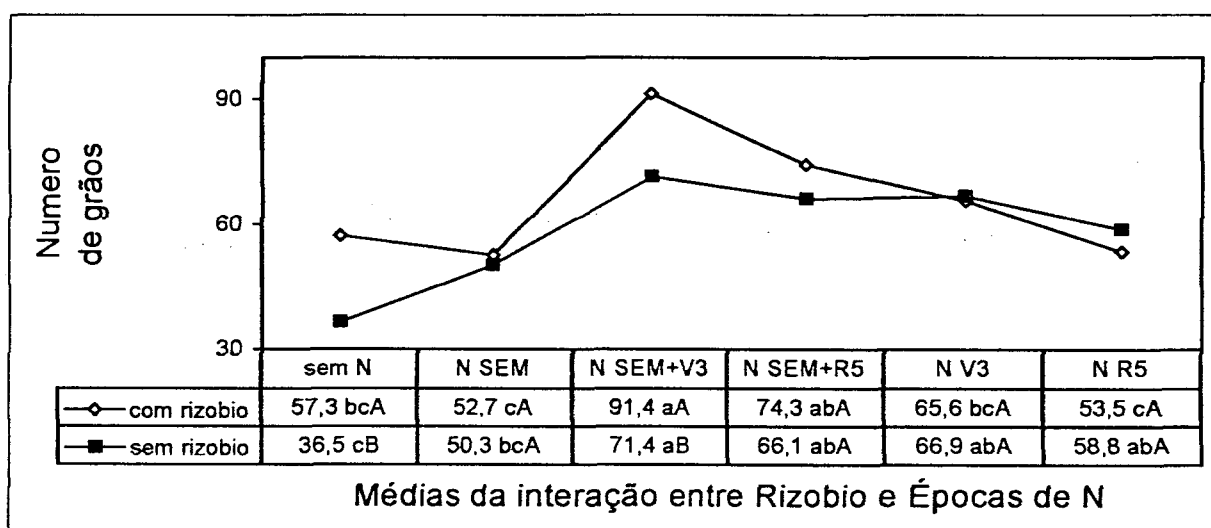
#### 4.2 AVALIAÇÕES NA MATURAÇÃO FISIOLÓGICA (R9)

Os resultados da análise de variância, apresentados no Anexo 2, para o experimento desenvolvido em casa de vegetação com o feijoeiro da variedade FT Bio Nobre (duas plantas úteis por vaso), avaliados 101 dias após a semeadura (estádio R9), indicam que os

#### 4.2.2 Número de grãos

O número de grãos por vagem pode ser descrito como um fator genético de cada variedade. Nos resultados da Tabela 6, na variedade FT Bio Nobre o número médio de grãos por vagem neste experimento, ficou em torno de 5 grãos em cada vagem. O enchimento de vagens (R8) ocorre na fase posterior a formação de vagens (R7), para a planta encher as vagens com os grãos, a energia dos nutrientes acumulada nos tecidos deve ter sido realizada nas fases vegetativas, para ser translocada dos tecidos para as vagens e enchimento de grãos, partindo das partes mais velhas para as partes mais novas, os chamados drenos fisiológicos (59,77). Na Figura 4 observamos as diferenças no número médio de grãos por vaso entre os diferentes tratamentos, as diferenças ocorreram novamente entre os tratamentos com e sem inoculante e sem aplicação de nitrogênio, o *Rhizobium tropici* inoculado é mais eficiente na formação de número de nódulos e conseqüente FBN (34, 14) mas esta só começou a ocorrer após 15 dias (14, 24, 37), o que deve ter ocorrido foi um estabelecimento precoce, mesmo porque o solo apresentava condições de disponibilizar nitrogênio, mas a testemunha não inoculada não obteve resultados positivos como a inoculada, portanto além do nitrogênio do solo a FBN fez a diferença, outra diferença com e sem inoculante ocorre nos tratamentos onde tivemos a aplicação de nitrogênio na semeadura e em cobertura (V3), como as doses foram as mesmas a diferença no número de grãos se deve ao *Rhizobium tropici*.

FIGURA 4. Valores médios do número de grãos por vaso resultantes da interação do rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.

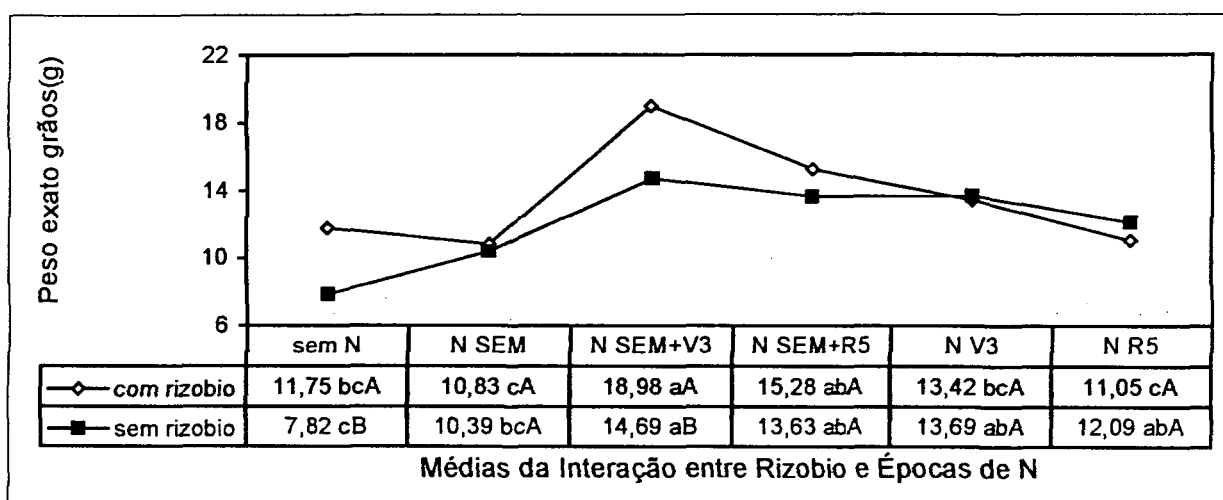


Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.2.3 Massa exata de grãos

Para o componente de rendimento, a variável massa exata de grãos, observamos um comportamento dependente do número de vagens e número de grãos por vaso conforme os resultados na Tabela 6, portanto os comportamentos são parecidos com os anteriores já descritos, número de vagens por vaso e número de grãos por vaso. Os melhores resultados (Tabela 6) ocorreram tanto no tratamento inoculado com *Rhizobium tropici* ou não inoculado, onde foi efetuada a adubação nitrogenada na semeadura e cobertura (V3), Figura 5. Portanto o nitrogênio fornecido até os 21 dias após a semeadura foi a melhor época de aplicação de nitrogênio.

FIGURA 5. Valores médios da massa exata de grãos por vaso resultantes da interação rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.



Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Nos tratamentos onde houve melhor disponibilidade de nitrogênio nos estádios vegetativos já era esperado que a resposta na produção de grãos fosse superior. O rizóbio sempre demonstrou que é um incremento favorável a produtividade, mas sendo ainda dependente do nitrogênio que possa ser disponibilizado pela fertilização mineral, principalmente a adubação parcelada 1/3 na semeadura e 2/3 em cobertura (56, 45, 60).

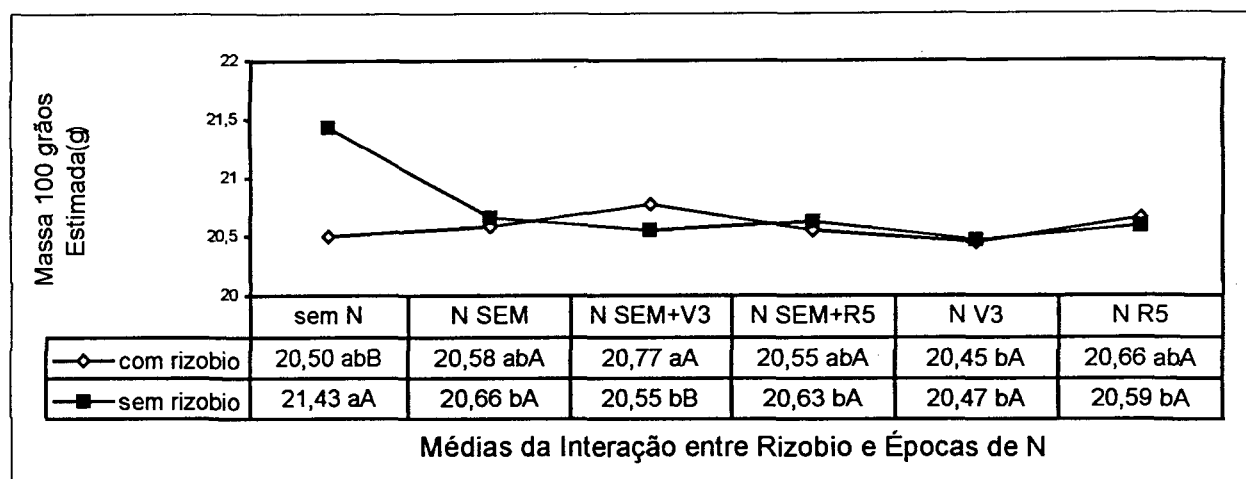
#### 4.2.4 Massa de 100 grãos estimada

Na figura 6, podemos observar o comportamento das médias da interação e verificar que seu comportamento diferiu um pouco, pois os melhores resultados (Tabela 6) são encontrados na testemunha. Mesmo a testemunha apresentando os menores resultados no



número de vagens e grãos por vaso o peso de seus grãos mantiveram-se na média dos demais, e quando se extrapolou os resultados tem-se a falsa impressão, que a testemunha atingiu os melhores resultados, mesmo apresentando os valores médios mais altos nesse fator, o que realmente interferiu na produtividade foi o número de vagens por planta.

FIGURA 6. Valores médios da massa de 100 grãos estimada resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.



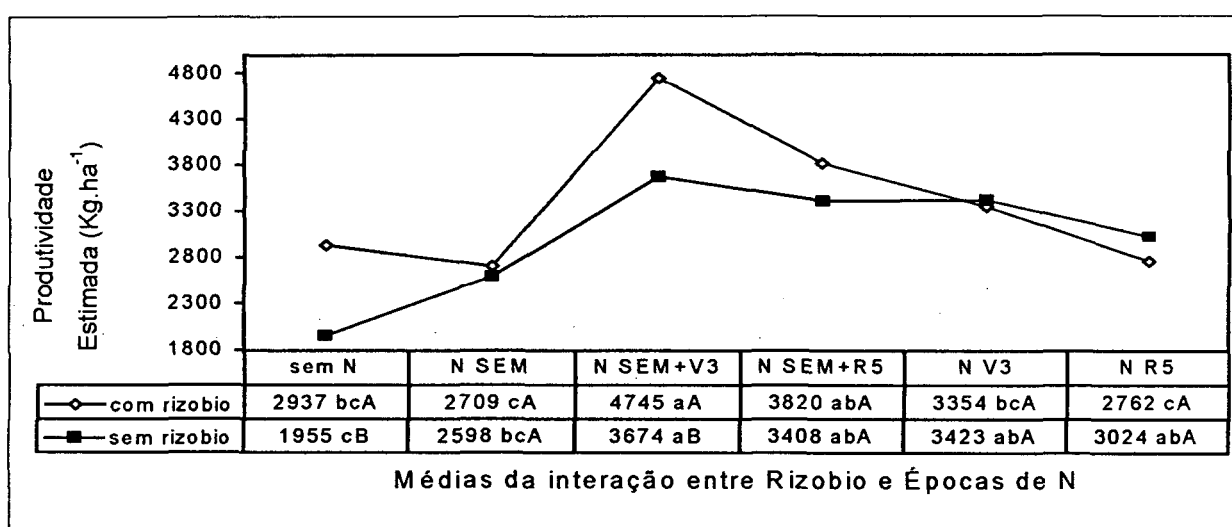
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

#### 4.2.5 Produtividade estimada

Com os resultados da produtividade estimada (Tabela 6), podemos observar que com o uso correto de inoculantes para o feijoeiro, sempre lembrando de respeitar as recomendações técnicas, podemos manter as produtividades, servindo como incremento no fornecimento de nitrogênio (14, 73). Sendo o feijoeiro uma cultura de ciclo curto, essa prática ainda não atingiu a eficiência necessária para dispensar o uso de fertilizantes nitrogenados, podemos caminhar no sentido de aproveitar a inoculação na tentativa de reduzir as doses de nitrogênio atualmente recomendadas, podendo assim diminuir custos produtivos. Dessa forma, a inoculação da variedade "FT Bio Nobre" com a inoculação com o *Rhizobium tropici*, mostrou-se eficiente na formação de nódulos, sua eficiência na FBN ainda precisa ser melhor estudada, principalmente as quantidades de nitrogênio aplicadas juntamente com o inoculante (34, 14, 73), em condições de casa de vegetação já era esperado que houvesse condições favoráveis para cultura poder expressar seu potencial produtivo, pois o regime hídrico foi satisfatório, e não houve incidência de pragas ou doenças. Os resultados da produtividade estimada demonstraram que as condições de

fertilidade do solo estavam adequadas, pois a cultura pode se desenvolver de maneira adequada até o final do ciclo, o nitrogênio incorporado ou fixado biologicamente assim como o suprimento de nitrogênio do solo oriundo da mineralização da M.O. puderam suprir a planta satisfatoriamente (19, 11), por isso o resultado da testemunha também mostra valores que indicariam uma produtividade boa em relação as médias de produtividade atingidas a campo. Na Figura 7, observamos os valores médios da produtividade estimada, as diferenças entre os tratamentos seguiram a mesma tendência dos componentes do rendimento, como era esperado, os melhores resultados foram com e sem inoculante onde tivemos adubação na semeadura e cobertura (V3) .

FIGURA 7. Valores médios de produtividade estimada resultantes da interação entre rizóbio e épocas de aplicação de nitrogênio.



Médias seguidas pela mesma letra minúscula na horizontal e maiúscula na vertical não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

A variedade "FT Bio Nobre" mostrou ter um bom potencial produtivo atingindo altas produtividades, é uma variedade promissora para utilização em campo, lembrando que se as práticas de manejo forem adequadas sua produtividade pode atingir valores acima de 3000 kg.ha<sup>-1</sup>. A utilização do *Rhizobium tropici* como agente de nodulação permanece como alternativa, pois este demonstrou ser eficiente na nodulação, formando a maioria do número de nódulos na planta, sua eficiência na FBN demonstrou-se efetiva. O rizóbio pode ser eficiente mais não pode ser utilizada como única fonte de nitrogênio, o manejo do solo e uma adubação com fósforo e potássio são indispensáveis, além da calagem e a utilização de rotação de culturas (8, 11). Utilizando as doses recomendadas de nitrogênio mineral para cultura do feijoeiro permanece como prática recomendada, pois adubações exageradas não

aumentam a produtividade, podendo ainda interferir nos sistemas biológicos de forma *negativa* (49, 10).

## 5 CONCLUSÕES

A variedade testada de feijão FT Bio Nobre mostrou-se eficiente na formação de nódulos com a utilização do *Rhizobium tropici*.

A FBN pelo *Rhizobium tropici* foi eficiente.

A melhor produtividade do feijoeiro FT Bio Nobre foi com inoculação com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada na semeadura e cobertura V3.

No florescimento (R6):

A massa seca da parte aérea foi influenciada pelas épocas de aplicação de nitrogênio.

O nitrogênio total da parte aérea esteve dentro dos níveis adequados.

O *Rhizobium tropici* foi eficiente na formação do número de nódulos.

Na maturação fisiológica (R9):

O fator limitante para o desenvolvimento dos componentes do rendimento, (número de vagens, número de grãos, massa exata de grãos, massa de 100 grãos estimada), foi o nitrogênio.

A produtividade estimada teve os melhores resultados com *Rhizobium tropici* e adubação nitrogenada na semeadura e cobertura V3.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O *Rhizobium tropici* isoladamente não pode ser utilizado como única fonte de nitrogênio para cultura do feijoeiro, apesar de seu potencial de nodulação ter se mostrado satisfatório, sua eficiência na FBN precisa ser melhor estudada. Como a efetividade do rizóbio inicia-se 3 – 4 semanas após a emergência das plantas, o solo e as reservas da semente serão a única fonte de nitrogênio caso a adubação nitrogenada não seja realizada. Em cultivares de feijão que apresentem ciclo mais longo a nodulação, portanto seria mais efetiva, pois a planta teria mais tempo para se favorecer da fixação biológica. Como pode ocorrer antagonismo do rizóbio com aplicações de nitrogênio na semeadura, o solo deverá ser manejado de acordo para que possa suprir a planta nas semanas iniciais, além de sementes de qualidade, que possuam uma boa reserva.

A inoculação de sementes de feijão com *Rhizobium tropici*, ainda necessita de estudos mais específicos com relação a bactéria e a planta, pois as variáveis são muitas nesse sistema de simbiose.

A adubação nitrogenada precisa ser mais estudada quanto as doses e mesmo as épocas que devem ser realizadas, pois, se a quantidade de nitrogênio for excessiva a nodulação será prejudicada, pela quantidade de nitrogênio adicionado na semeadura e cobertura nas fases iniciais, se as reservas de nitrogênio do solo forem boas, mesmo as doses recomendadas para o feijoeiro poderiam ser prejudiciais ao estabelecimento da nodulação.

A fonte de nitrogênio utilizada também deveria ser averiguada, pois existem diferenças entre os produtos que são utilizados e a interação destes com o meio.

A adubação nitrogenada incrementada pela FBN, pode ser utilizada no feijoeiro, devemos observar bem o histórico da área, tipo de cultivo, pois pode-se fazer um manejo mas adequado do solo, para que este possa disponibilizar nitrogênio, além de manter as propriedades químicas e físicas mais adequadas, auxiliando na conservação deste solo, e favorecendo assim o estabelecimento da nodulação pelo rizóbio inoculado.

## 7 REFERÊNCIAS

1. ANDREOLA, F. A Cultura do feijoeiro. In: EMPRESA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA. **A cultura do feijão em Santa Catarina**. Florianópolis: EMPASC, 1992. p. 83-94.
2. AMBROSANO, E.J.; WUTKE, E.B.; AMBROSANO, G.M.B.; BULISANI, E.A., BORTOLETTO, N.; MARTINS, A.L.M.; PEREIRA, J.C.V.N.A.; DE SORDI, G. Efeito do nitrogênio no cultivo de feijão irrigado de inverno. **Scientia Agrícola**, v.53, p.338-342, 1996b.
3. ANTUNES, P. L.; BILHALVA, A.B.; ELIAS, M.C.; SOARES, G.J.D. Valor nutricional de feijão (*Phaseolus vulgaris* L), cultivares RICO 23, CARIOCA, PIRATÁ-1 e ROSINHA-G2. **Rev. Brás. DE AGROCIENCIA**, v.1, nº1, jan-abr, p.12-18.1995.
4. ARAUJO, R. S. Fixação biológica do nitrogênio em feijão. In: ARAUJO, R.S.; HUNGRIA, M. (eds). **Microorganismos de importância agrícola**. Brasília: CNPAF-CNPSo/EMBRAPA, 1994b. p.91-120
5. ARAUJO, F.F; MUNHOZ, R.E.V.; HUNGRIA, M. início de nodulação em sete cultivares de feijoeiro inoculadas com duas estirpes de *Rhizobium*. **Pesq. Agrop. Brás.** v.31, n.6, 1996.
6. ARF, O.; FORNASIERI FILHO, D.; MALHEIROS, E.B.; SAITO, S.M.T. Efeito da inoculação e adubação nitrogenada em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivar carioca 80. **Cientifica**, v.19, p.29-38, 1991.
7. BARBOSA, M.P.F.; SILVA, O.F.da. Adubação e calagem para o feijoeiro irrigado em solo de cerrado. **Pesquisa Agropecuária brasileira**. V.35,n.7, jul 2000.
8. BLEVINS, R.L.; JARRELL, W.M. Influence no tilage; nitrogen fertilization on centrain soil proprieties after 5 year of continuos com. **Agronomy Journal**, v.66, p.663-668, 1997.
9. BUCHANAN, G.J. **Biochemistry and Molecular biology of Plants**. Am. Soc. Plant. Physiology, 2000.
10. BUZETTI, S.; ROMERO, P.J.M.; ARF, O.; SÁ, M.E. de; GUERREIRO NETO, G. Efeito da adubação nitrogenada em componentes da produção de feijoeiro(*Phaseolus vulgaris* L) cultivado em diferentes densidades. **Cultura Agronômica**, v.1, n.1, p.11-19, 1992
11. CARVALHO, E.A. **Avaliação agronômica da disponibilidade de nirogenio a cultura do feijão sob sistema de semeadura direta**. Piracicaba, 2002. 63p. (Tese de Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz.
12. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Annual report of the bean production program**. Cali, 1978. 75p.
13. CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Sistemas de produccion de frijol**. Cali, 1976. 91p.
14. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE BIOLOGIA DO SOLO. **A Inoculação do feijoeiro comum com rizobio**. Brasília: EMBRAPA – CNPBS, 1992. p.1-8 (Comunicado Técnico n.10)
15. CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE SOLOS (Rio de Janeiro, RJ). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. – Brasília: Embrapa Produção de Informação, Rio de Janeiro: Embrapa Solos, 1999. p. 197-215.
16. CONAB. **Comparativo da área, produção e produtividade. Safras de 2001/2002 e 2002/2003. Feijão 1º, 2º e 3º safras**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/safras.asp>. Capturado em: 15/08/2003.
17. CUNHA, J.M.; GUZZELLI, R.J.; DALL'ACQUA, F.M.; FERNANDES, D.C. Níveis de nitrogênio na cultura do feijão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.15, p.47-52, 1980.

18. DEBOUCK, D. G.; HIDALGO, R. Morfologia de la planta de frijol comum. In: LÓPEZ, M.; FERNANDEZ, F.; SCHOONHVEN, A. V. (eds). *Frijol: investigación y producción*. CIAT/PNUD, 1985. P.7-60
19. DIAZ-ROMEU, R.; BALERDI, F.; FASSENBER, H.W. Contenido de matéria orgânica y nitrogênio em solos de América Central. *Terrialba*, v.20, p.185-192, 1970.
20. DINIZ, A.R.; ANDRADE, M.J.B.; CARVALHO, J.G.; LIMA, S.F.; LUNKES, J.A. Resposta da cultura de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) à aplicação de nitrogênio (cobertura e semeadura) e de molibdênio foliar. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 5., Goiânia, 1996. *Anais*. Goiânia: EMBRAPA, CNPAF, 1996. p.73-75
21. DÖBEREINER, J. *A biologia do solo na agricultura brasileira*. Brasília: EMBRAPA-UAPNPBS, 1986.
22. DÖBEREINER, J. A importância da Fixação de Nitrogênio para a Agricultura sustentável. Brasília, *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, n.1, maio 1997 (encarte especial, p.2-4)
23. EMBRAPA. **Sistemas de produção do feijoeiro**. Disponível em: <http://www.cnpaf.embrapa.br/pesquisa/feijao.htm>. Capturado em 15/06/2000
24. ENDO, R.M. Efeito de inoculação, de nitrogênio mineral e fornecimento de micronutrientes na cultura do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) de inverno, Cv. Carioca 80. Jaboticabal, 1986. 48p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Agrárias Julio de Mesquita Filho.
25. FAO QUARTERLY BULLETIN OF ESTATISTICS. Rome, v.5,121p.1992.
26. FERNANDEZ, F.; CEPTS, P. LÓPEZ, M., *Etapas de desarrollo de la planta de frijol común*. CIAT, Cali, Colombia, 1982. 26p.
27. FERREIRA, A.N.; ARF, O. CARVALHO, M.A.C.; ARAUJO, R.; SÁ, M.E.; BUZETTI, S. Estirpes de *Rhizobium tropici* na inoculação do feijoeiro. *Scientia Agrícola*, v.57,n.3,p.507-512,2000.
28. FRANCO, A.A.; DÖBEREINER, J. Interferência do cálcio e nitrogênio na fixação simbiótica do nitrogênio por duas variedades de *Phaseolus vulgaris* L. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v.3, p.223-227,1968.
29. FREIRE, J.R.J. Fixação do Nitrogênio pela Simbiose Rhizobio / Leguminosa. In: Cardoso, E.J.B.N., Tsai, S.M.; Neves, M.P.C. (eds). *Microbiologia do solo*. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1992.
30. FT-PESQUISA E SEMENTES – Langamentos. Ponta Grossa, FT sementes s/d (folder).
31. GOMES, F.P. *Curso de estatística experimental*. 14 ed. Piracicaba: ESALQ, 2000.
32. GOULART, L.S.; BALDANI, J.I. Efeito do choque térmico na expressão de estirpes de *Rhizobium leguminosarum* pv. *Phaseoli* e *Rhizobium tropici*. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 4, Londrina, 1993. Resumos. Londrina: IAPAR, 1993.p.133.
33. HOPKINS, W.G. *Introduction to plant physiology*. New York, John Wiley & Sons, 1995. 464p.
34. HUNGRIA, M.; CAMPO, R.J. Bactérias economizam milhões de dólares no cultivo da soja e do feijoeiro. **ARTIGOS EMBRAPA – COLETÂNEA RUMOS & DEBATES**. 2000.
35. HUNGRIA, M.; FRANCO, A.A. Nódulo sonosconco in *Phaseolus vulgaris* L. *Tropical Agriculture*, v.65, p.341-345, 1988.
36. HUNGRIA, M.; RUSCHEL, A.P. Atividade do nitrogênio e evolução do hidrogênio pelos nódulos de *Phaseolus vulgaris*. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, Campinas, v.11, p. 269-274, 1987.
37. HUNGRIA, M.; VARGAS, M.A.T.; SUHET, A.A.R.; PERES, J.R.R.; MENDES, I.C. Identificação de parâmetros relacionados com a eficiência e capacidade competitiva do rizóbio In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (eds). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: CNPAF/ CNPSo-EMBRAPA, 1994a. p. 285-325.

38. IBGE. **Confronto das safras de 2002 e das estimativas para 2003**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/ibge/estatistica/indicadores/lspa/default.shtm>. Capturado em: 7/8/2003.
39. INSTITUTO AGRONômICO DO PARANÁ. **O feijão no Paraná**. Londrina, 1989. 303p. (Circular 63).
40. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA (IBGE). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**: pesquisa mensal de previsão de safras agrícolas no ano civil. Rio de Janeiro: Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e estatística, 1997. 70p.
41. JORDAN, D.C. Family III. Rhizobiaceae Conn, 1938, 32 AL. In: KRIEG, N.R.; HOLT, J.G. (Ed) **Bergey's manual of systematic bacteriology**. London: Williane and Williana, 1984., v.1. p.234-256.
42. LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**. Tradução: Carlos Henrique B. A. Prado. Revisão técnica: Carlos Henrique B. A. Prado e Augusto César Franco. São Carlos, RiMa, 2000. p.203-210.
43. MALAVOLTA, E. Nutrição e adubação. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE FEIJÃO, 1. Viçosa, 1972. **Anais**. Viçosa:UFV, 1972.p.211-242.
44. MALAVOLTA, E. **Manual de Calagem e Adubação das Principais Culturas**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1987. p.102-126.
45. MALAVOLTA, E. LIMA FILHO, O.F. Nutrição e adubação do feijoeiro. In: FANCELLI, AL.; DOURADO NETO, D. (Ed) **Tecnologia e produção de feijão irrigado**. Piracicaba: ESALQ, 1997. p.22-51.
46. MARIOT, E.J. Ecofisiologia do feijoeiro. In: IAPAR. **O feijão no Paraná**. Londrina: IAPAR, 1989, p. 25-41.
47. MEIRELLES, N.M.F.; LIBARDI, P.L. REICHARDT, K. Absorção e lixiviação de nitrogênio na cultura de feijão. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.4, p.83-88, 1980.
48. MENDES, I.C.; VARGAS, M.A.T, HUNGRIA, M. Adubação nitrogenada e inoculação do feijoeiro em solo de cerrado. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS 23., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS,7; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., caxambu, 1998. **Resumos**. Caxambu: Universidade Federal de Lavras, 1998. p202.
49. MENDONÇA, L.F.; MARQUES, E.M.G.; ARAUJO, R.S. Resposta DO feijoeiro a cinco estirpes de de rizóbio e adubação nitrogenada no estado do Espírito Santo. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS 23., REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE MICORRIZAS,7; SIMPÓSIO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA DO SOLO, 5; REUNIÃO BRASILEIRA DE BIOLOGIA DO SOLO, 2., caxambu, 1998. **Resumos**. Caxambu: Universidade Federal de Lavras, 1998.p.200
50. MERCANTE F.M.; FRANCO, A.A. Uso de *Leucaena leucocephala* para obtenção de rhizobium tropici tolerantes à temperatura elevada para inoculação do feijoeiro. In: FEIRA NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA, 2, São Paulo, 1991. **RESUMOS**. São Paulo: Associação Brasileira de Empresas de Biotecnologia, 1991. p.24
51. MERCANTE, F.M. GOI, S.R. & FRANCO A.A. importância de compostos fenólicos nas interações entre espécies de leguminosas e rizóbio. **Revista Universidade Rural, série Ciências da Vida**. V.22, n.1, p.65-81, 2002.
52. MRE -Ministério das Relações Exteriores. **Programa de Acompanhamento da Economia Agrícola - Feijão**. Disponível em: <http://www.mre.gov.br/cobrasil/itamaraty/web/port/economia/agric/produção/feijão/apresent.htm>. Capturado em 15/08/2002.
53. MYLONA, P.; PAWLOWSKI, K. & DISSELING, T. Symbiotic nitrogen fixation. **The Plant Cell**, 7:869-885, 1995.



54. OLIVEIRA, I.P.; THUNG, M.D.T. Nutrição mineral. In: ZIMMERMANN, M.J.O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (EDS). **Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: PATAFOS, 1989, p.175-212.
55. OLIVEIRA, I.P.de; ARAUJO, R. S.; DUTRA, L. G. Nutrição Mineral e Fixação Biológica de Nitrogênio. In: Ricardo Silva Araújo [et al.] (coords). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil** Piracicaba: PATAFOS, 1996. p. 208 - 213.
56. PARRA, M.S. Nutrição e adubação. In: IAPAR. **O feijão no Paraná**. Londrina: IAPAR, 1989. p.79-100.
57. PEREIRA, J.C. **Obtenção e avaliação de mutantes espontâneos de *Rhizobium phaseoli* resistentes a antibióticos e fungicidas**. Dissertação de Mestrado. Porto Alegre: UFRGS, 1983.
58. POLIDORO, J.C.; TEIXEIRA,P.C; DEUS,M.A.T.; URQUIAGA,S.; ALVES,B.J.R. Avaliação da nutrição molibidica e suas interações com o fósforo e o nitrogênio no crescimento de plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L) inoculadas com *Rhizobium*. In: FERTBIO 98, Caxambu, 1998. **Anais**. Caxambu, 1998. v.1, p.741
59. PORTES, T. de A. Ecofisiologia. In: Ricardo Silva Araújo [et al.] (coords). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil** Piracicaba: PATAFOS, 1996. p. 101-125.
60. RAIJ, B.V. **Fertilidade do solo e adubação**. Piracicaba: PATAFOS/Ceres, 1991.
61. RAVEN, P.H.; EVERT, R.F. & EICHHORN, S.E. **Biologia Vegetal**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1996. 728p.
62. ROSOLEM, C. A. Calagem e Adubação Mineral. In: Ricardo Silva Araújo [et al.] (coords). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil**. Piracicaba: PATAFOS, 1996. p.363- 368
63. ROSOLEM, C.A.; MARUBAYASHI, O.M. Seja o doutor de seu feijoeiro. **Informações Agrônômicas**, n.68, p.1-16, 1994. Encarte Especial.
64. SALISBURY, F.B. & ROSS, C.W. **Plant Physiology**. Belmont, Wadsworth Publ. Co,1991. 682p.
65. SÁ, M.E. de; BUZZETI, S. **Importância da adubação na qualidade de produtos agrícolas**. Ed. Ícone, 1994. p.60-87.
66. SÁ, M.E.; BUZZETI, S.; CONSTANT, E.A., FRIZZONE, J.A.; SANTOS, P.C. Efeito da adubação nitrogenada na cultura do feijoeiro cultivar Carioca, cultivada em um solo sob vegetação de cerrado. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE FEIJÃO, 1. Goiânia, 1982. **Anais**. Goiânia: EMBRAPA, CNPAF, 1982. p.161.
67. SARRUGE, J.R.; HAAG, H.P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ; Departamento de química, 1974. 56p.
68. SEAB. **Acompanhamento da situação agropecuária no Paraná**. Curitiba, 1999,v.25,n.10,101p.
69. SEAB. Produção agrícola (estimativa). Disponível em: <http://www.pr.gov.br/seab>. Capturado 12/08/2003.
70. SILVA, P.M. da; TSAI, S.M.; BONETTI, R. Response to inoculation and N fertilization for increased yield and biological nitrogen fixation of common bean (*phaseolus vulgaris* L.). **Plan and Soil**, v.152, p.123-130, 1993.
71. SIQUEIRA, J.O.; FRANCO, A.A. **Biotecnologia do solo: Fundamentos e perspectivas**. Brasília: MEC/ESAL/FAEPE/ABEAS, 1988.
72. SKOT, L.; ARAUJO, R.S. Introdução de genes de *Rhizobium* In: HUNGRIA, M.; ARAUJO, R.S. (eds). **Manual de métodos empregados em estudos de microbiologia agrícola**. Brasília: CNPAF/CNPSo-EMBRAPA, 1994. p.201-226.
73. STRALIOTTO, R. **A importância da inoculação com rizóbio na cultura do feijoeiro**. Comunicado Embrapa Biotecnologia, Seropédica, Rio de Janeiro. 2002
74. STRALIOTTO, R.; YUNDA, A.L.; FRANCO, A.A.; BALDANI, J.I. Estirpes do grupo II de rizóbios tolerantes a altas temperaturas e competitivas para a inoculação do feijoeiro. In: FEIRA NACIONAL DE BIOTECNOLOGIA, 2, São Paulo, 1991. **RESUMOS**. São Paulo: Associação Brasileira de Empresas de Biotecnologia, 1991. p.17

75. TSAI, S.M.; BONETTI, R.; AGBALA, S.M.; ROSSETTO, R. Minimizing the effect of mineral nitrogen on biological nitrogen fixation in common bean by increasing nutrient levels. **Plant and Soil**, v.152, p.131-138, 1993.
76. URBEN FILHO, G.; CARDOSO, A.A.; VIEIRA, C.; FONTES, L.A.N.; THIÉBAUT, J.T.L. Doses e modo de aplicação de adubo nitrogenado na cultura do feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) **Revista Ceres**, v.27, p.303-312, 1980.
77. VIEIRA, C. **Cultura do feijão**. 2<sup>a</sup> ed. Viçosa: UFV, 1983.
78. VIEIRA, C. V.; HEMP, S. Taxonomia e morfologia do feijoeiro. In: EMPRESA DE PESQUISA AGRPECUÁRIA E DIFUSÃO DE TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA. **A cultura do feijão em Santa Catarina**. Florianópolis, EPAGRI, 1992. p.37-51.
79. VILHORDO, B.W.; MIKUSINSKI, O.M.F; BURIN, M.E.; GANDOLFI, V.H. Morfologia. In: Ricardo Silva Araújo [et al.] (coords). **Cultura do feijoeiro comum no Brasil** Piracicaba: PATAFOS, 1996. p. 71-94
80. ZIMMERMAN, M.J.O.; TEIXEIRA, M.G. Origem e evolução. In: ZIMMERMANN, M.J.O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (eds). **Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: PATAFOS, 1988. p.79-85.

## **ANEXOS**

ANEXO 1. Resultados da análise de variância para as avaliações realizadas em R6 (floração) no feijoeiro “FT BIONOBRE” com e sem rizóbio e seis épocas de aplicação de nitrogênio.

| Fonte de variação            | GL | Quadrados Médios                        |   |  |
|------------------------------|----|---|---|--|
|                              |    | Massa seca<br>(g.planta <sup>-1</sup> ) | N total da parte aérea<br>(g.kg <sup>-1</sup> ) | Número de nódulos.planta <sup>-1</sup> |
| inoculante                   | 1  | 479,435 <sup>ns</sup>                   | 16,567 <sup>**</sup>                            | 32917,688 <sup>**</sup>                |
| Épocas de N                  | 5  | 1534,079 <sup>**</sup>                  | 40,199 <sup>**</sup>                            | 623,138 <sup>*</sup>                   |
| inoculanteXÉpocas de N       | 5  | 223,460 <sup>ns</sup>                   | 35,054 <sup>**</sup>                            | 682,438 <sup>*</sup>                   |
| Erro Experimental            | 36 | 179,951                                 | 1,517   | 203,368                                |
| Total                        | 47 |   |   |  |
| Teste de Bartlett - $\chi^2$ |    | 9,012 <sup>ns</sup>                     | 8,316 <sup>ns</sup>                             | 26,404 <sup>ns</sup>                   |
| Coeficiente de Variação      |    | 17,39%                                  | 3,16%   | 23,35%                                 |

<sup>ns</sup> - não significativo ao nível de 5% probabilidade

<sup>\*</sup> - significativo ao nível de 5% probabilidade

<sup>\*\*</sup> - significativo ao nível de 1% probabilidade

GL – Graus de Liberdade

ANEXO 2. Resultados da análise de variância das avaliações realizadas em R9 (maturação fisiológica) no feijoeiro "FT BIONOBRE" com e sem de rizóbio e seis épocas de aplicação de nitrogênio.

| Fonte de variação            | GL | Quadrados Médios                      |                                      |   |  |                                      |
|------------------------------|----|---------------------------------------|--------------------------------------|---|--|--------------------------------------|
|                              |    | Numero de vagens.planta <sup>-1</sup> | Numero de grãos.planta <sup>-1</sup> | Massa exata de grãos.planta <sup>-1</sup> | Massa de 100 grãos (g.planta <sup>-1</sup> ) | Produtividade (kg.há <sup>-1</sup> ) |
| inoculante                   | 1  | 17,521**                              | 667,894**                            | 26,919*                                   | 0,220**                                      | 1680008,333*                         |
| Épocas de N                  | 5  | 27,358*                               | 1335,161**                           | 55,943**                                  | 0,224**                                      | 3498754,930**                        |
| inoculante X Épocas de N     | 5  | 7,008*                                | 239,618*                             | 9,781*                                    | 0,325**                                      | 610456,404*                          |
| Erro Experimental            | 36 | 2,281                                 | 87,059                               | 3,705                                     | 0,017  | 231647,597                           |
| Total                        | 47 |                                       |                                      |   |  |                                      |
| Teste de Bartlett - $\chi^2$ |    | 17,814 <sup>ns</sup>                  | 19,266 <sup>ns</sup>                 | 20,751 <sup>ns</sup>                      | 41,869 <sup>ns</sup>                         | 20,759 <sup>ns</sup>                 |
| Coeficiente de Variação      |    | 12,18%                                | 15,03%                               | 15,03%                                    | 0,64%  | 15,04%                               |

<sup>ns</sup> - não significativo ao nível de 5% probabilidade

\* - significativo ao nível de 5% probabilidade

\*\* - significativo ao nível de 1% probabilidade